



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA
FRENTE A *Escherichia coli* spp. AISLADA EN UROCULTIVOS DE
PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA DEL
HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA

Tesis previa a la obtención del título de
Licenciada en Laboratorio Clínico.

AUTORA:

Liliana del Cisne Jima Solano

DIRECTORA:

Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc

Loja - Ecuador

2015

Educación
sinónimo de
Libertad



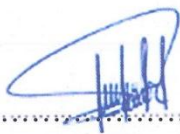
CERTIFICACIÓN

Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación: CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA FRENTE A *Escherichia coli spp.* AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA, elaborado por la proponente LILIANA DEL CISNE JIMA SOLANO estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, ha sido ejecutado y revisado bajo mi dirección de manera que certifico que cumple con los requerimientos institucionales.

Loja, 10 de Diciembre 2015



.....
Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **Liliana del Cisne Jima Solano** declaro ser autora del presente trabajo de tesis y excuso expresamente a la Universidad Nacional de Loja y su Área de la Salud Humana, así como a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual, de así considerarlo necesario.

Autora: Liliana del Cisne Jima Solano

Firma



N° de Cédula:

1105032070

Fecha:

11 de Diciembre de 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS

Yo, **Liliana del Cisne Jima Solano** declaro ser autora de la tesis titulada **CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA FRENTE A *Escherichia Coli spp.* AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA**, como requisito previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el repositorio digital institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero. Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 11 días del mes de diciembre de dos mil quince, firma la autora.

Firma:.....

Autora: Liliana del Cisne Jima Solano
Cédula: 1105032070
Dirección: Catacocha y 24 de Mayo
E-mail: lilidim1420@outlook.com
Teléfono: 2575529 **Celular:** 0990254059

Datos complementarios:

Director de tesis: Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.

Tribunal de Grado: Dra. Mariela Alexandra Idrovo Vallejo, Mg. Sc.

Lda. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

Lda. María del Cisne Lojan, Mg. Sc.

DEDICATORIA

A Dios por haberme concedido la vida y guiar cada uno de mis pasos.

Con mucho cariño a mis padres Manuel y María porque gracias a su amor, comprensión y apoyo incondicional he alcanzado esta meta. A mis hermanos, Cristhian y Yessenia que llena de alegría mi existencia.

A mis Jefes Nixon y María Elizabeth que me han dado apoyo incondicional en los momentos que los he necesitado. A mis abuelitas, tíos, primos y amigos, por su cariño y especialmente a mis abuelitos Ángel y Francisco que desde el cielo me guían y me cuidan en mi diario vivir.

A mis queridos docentes José Antonio y Paola Benítez que han sido pilar fundamental para cumplir esta meta

AGRADECIMIENTO

A Dios Todopoderoso.

A mi Directora Dra. Paola Benítez, por ser mi apoyo, guía y por su valioso tiempo dedicado a la dirección de esta tesis.

A mi guía Ing. José Antonio por sus consejos y por compartir desinteresadamente sus amplios conocimientos y experiencia. Admiro su calidad humana, su nobleza y sabiduría.

A la Dra. Elsa Ramírez Jefa de Laboratorio del Hospital Militar Brigada N°7 Loja, por su apertura y apoyo en la realización de esta tesis.

A todos los pacientes que nos colaboraron, pues sin su ayuda esta tesis no hubiese podido llevarse a cabo.

A mis profesores por compartirme sus conocimientos y experiencias profesionales a lo largo de mi vida universitaria. A mis amigos, por su amistad, apoyo y comprensión. A todas las personas que de una u otra forma colaboraron en la culminación de esta meta.

1. TÍTULO

“CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA
FRENTE A *Escherichia coli* spp. AISLADA EN UROCULTIVOS DE
PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL
MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA”

2. RESUMEN

Uno de los problemas más importantes que afecta a la salud pública es la creciente resistencia bacteriana que se da por la mutación bacteriana y administración incontrolada de antibióticos, su mal uso ha provocado emergencia de cepas resistente. La preocupación que se da sobre estas resistencias bacterianas es la efectividad del tratamiento para estas infecciones y también el costo que esta puede conllevar para la sociedad. La cefotaxima cefalosporina de tercera generación de alto espectro, fue usada para realizar el trabajo investigativo debido a que este es un antibiótico resistente a la hidrólisis por betalactamasas y mediante la cual se obtuvo resultados que ayudaran al tratamiento eficaz contra las infecciones producidas por *Escherichia coli spp.* El objetivo de esta investigación fue determinar cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefotaxima que se puede administrar frente a las cepas de *Escherichia coli spp.*, y así dar a conocer al personal médico el problema presente, con el fin de contribuir a la utilización racional de los antibióticos.

Se utilizó una muestra de 146 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión; de las cuáles 47 muestras fueron positivas a *Escherichia coli spp.*; se procesó mediante los métodos de Elemental y Microscópico de Orina (EMO), Urocultivo y Macrodilución en Caldo, llegando a los siguientes resultados: Entre los agentes más frecuentes productores de Infección de Tracto Urinario es *Escherichia coli spp.*, 74,60%, *Proteus spp.*, 15,87%, y *Klebsiella spp.*, con un 9,53%. La concentración mínima inhibitoria de cefotaxima que puede ser empleada para el tratamiento de Infecciones de tracto urinario es de 1ug/ml (sensible) con un porcentaje de 76.60%.

Palabras clave: Infección de Tracto urinario (ITU), Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), Cefotaxima, *Escherichia coli*.

3. SUMMARY

One of the most important problems that affect public health is the increasing of the bacterial resistance which occurs by the bacterial mutation and uncontrolled administration of antibiotics, their misuse has provoked emergence of resistant strains. The concern that is given about these bacterial resistances is the effectiveness of the treatment for these infections and also the cost that this may lead to society. The cephalosporin Cefotaxime of Third-generation of high spectrum was used to carry out the investigative work because this is an antibiotic resistant to hydrolysis by beta-lactamases and by means of which outcomes that would assist in the effective treatment against the infections produced by *Escherichia coli* spp was obtained. The aim of this investigation was to determine which one is the minimum inhibitory concentration of cefotaxime that can be administered against strains of *Escherichia coli* spp., and thereby to acquaint the medical staff about the present issue, with the aim of contributing to the rational utilization of the antibiotics.

A sample of 146 patients who fulfilled the criteria for inclusion was used; it was processed through the methods of Microscopical elementary and urine (EMO), uroculture and macro dilution in broth, reaching the following results: Among the most frequent agents' producers of Urinary Tract Infection is *Escherichia coli* spp., 74,60%, *Proteus* spp. 15,87% and *Klebsiella* spp. with a 9,53%. The minimum inhibitory concentration of cefotaxime which can now be used for the treatment of urinary tract infections is 1ug / ml (sensitive) with a percentage of 76,60%.

Keywords: urinary tract infection (UTI), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), cefotaxime, *Escherichia. coli*.

4. INTRODUCCIÓN.

Las infecciones de tracto urinario son una de las primeras causas de morbilidad en la población en general, siendo mayor en mujeres adultas. Estas infecciones se pueden dar debido a factores como inicio de relaciones sexuales, cambios hormonales, aplicación de sonda vesical o agrandamiento de la próstata, medidas higiénicas, clima, material de ropa interior, escolaridad, nivel socioeconómico, edad de la gestación o antecedentes de las infecciones urinarias recurrentes.(Andreu, 2008). Es importante mencionar, que para presentarse una infección recurrente debe haber factores en el cual participan: la bacteria, la persona afectada (hospedera), las defensas existentes en nuestro organismo (defensas primarias de la vagina, vejiga) (CAMPELL, 2008).

Las infecciones de tracto urinario pueden causar daño renal grave y aumentar la mortalidad de los pacientes que tienen este tipo de infección. Para el diagnóstico de la Infección de Tracto Urinario (ITU) se utilizan ciertos procedimientos como son el examen elemental y microscópico de Orina (EMO), Gram, urocultivo, antibiograma y la **concentración mínima inhibitoria** (Andreu, 2008).

En los Estados Unidos los gastos anuales en el año de 1995 fueron de 16 mil millones de dólares por la atención médica de 11.3 millones de mujeres que sufrieron infección urinaria. En el boletín Epidemiológico de la Secretaría de Salud se reportó en el año 2007 un total de 3 076 468 casos de infecciones del tracto urinario, de los cuales 2 294 451 (74.5%) fueron en mujeres y 749 755 (23%) se presentaron en hombres. En 2013, las infecciones de vías urinarias se mantienen como una de las primeras causas de morbilidad siendo *Escherichia coli* el principal agente causal con más del 90% de este tipo de infecciones, seguida por otros géneros bacterianos, como son *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* y *Staphylococcus* (Alvarez, 2007).

Un estudio realizado el año 2011 en Ecuador en el Hospital Vicente Corral Moscoso de la ciudad de Cuenca se pudo demostrar que de 360 muestras analizadas, 94 muestras presentaron Infección de Tracto Urinario (26,62%) siendo el agente etiológico más frecuentemente aislado *Escherichia coli spp*, 31,73%, seguido por *Estafilococo epidermides* con un 22,11%, luego *Enterobacter agglomerans* con un 12,5%. En las pruebas de sensibilidad para Enterobacterias (principales causantes de ITU) los resultados indican que pueden ser considerados como antibióticos de primera elección, el Meropenem, Nitrofurantoina y Fosfomicina por presentar valores de resistencia inferiores al 10%, en tanto que la Ampicilina, Amoxicilina + Ácido clavulánico, Ampicilina + sulbactám y Cefalotina solo deben prescribirse cuando se tenga la confirmación mediante la prueba de sensibilidad por presentar valores de resistencia superiores al 20% (Jehny Garzon, 2010).

La sensibilidad que tiene un agente microbiano para reaccionar frente a un determinado antibiótico es indispensable para aplicarlo en el tratamiento de las infecciones de tracto urinario producidas por enterobacterias Gramnegativas como es *Escherichia coli*. Por ello es necesario conocer cuál es la concentración mínima de los antibióticos que serviría para aplicarlo a los pacientes y también para poder evitar la resistencia bacteriana, dada principalmente en cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* o *Klebsiella oxytoca* cuando estas son productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE). Esto ocurre cuando se observa una reducción en los halos de inhibición o un aumento en las CIM (Concentración Mínima Inhibitoria) para cefalosporinas de tercera generación, para confirmación de resistencia bacteriana pueden utilizar cefotaxima versus cefotaxima más ácido clavulánico (Gracia, 2003).

Las cefalosporinas de tercera generación poseen propiedades farmacocinéticas y su espectro antimicrobiano así lo confirman, su vida media prolongada de hasta 36 h con concentraciones óptimas en sangre, la posibilidad de administración por vía parenteral (IV o IM), así como su amplio poder bactericida (más activo frente a cocos grampositivos, mayor acción frente a bacterias gramnegativas y acción contra gérmenes anaerobios) son características que ofrecen al médico una nueva alternativa terapéutica (Rene Zamora, 1998).

En Ecuador, en el año 2010, se registraron 14 887 casos de personas que sufrían de infección de tracto urinario, con una tasa de 1 273 por 100.000 habitantes, casi 50 % más que en 2005 (Jehny Garzon, 2010).

El estudio que se realizó es descriptivo y de corte trasversal, cuyos objetivos específicos fueron: realizar urocultivo a todos los pacientes que acuden a consulta externa del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja, se estableció la concentración mínima inhibitoria de cefotaxima en el crecimiento bacteriano de las cepas *de Escherichia coli spp* aislada en urocultivos realizados de marzo – Mayo del 2015, como también se difundió los resultados obtenidos a las autoridades del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja; los mismos que sirvieron para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima frente a *Escherichia coli spp.*, aislada en urocultivos de pacientes que acuden a consulta externa del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja, se procesó 146 muestras de todos los pacientes con pedido de urocultivos y que cumplían con todos los criterios de inclusión, de las cuales 67 muestras tuvieron crecimiento bacteriano obteniendo los siguientes resultados: que la bacteria que mayormente se presentó en Infección de tracto urinario es *Escherichia coli* con un 74.60%, *Proteus* con 15.87% y *Klebsiella* con un 9.53%. Mientras la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima frente a *Escherichia coli* fue menos de 1ug/ml que equivale al 76.60% sensible, 14.89% intermedio y 8.51% resistente.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. INFECCIÓN DE LAS VIAS URINARIAS.

Es considerada infección del tracto urinario (ITU) la presencia y multiplicación de microorganismos con invasión de los tejidos adyacentes que forman parte del aparato genitourinario, se pueden presentar manifestaciones clínicas o no. El origen bacteriano de la ITU es el más frecuente (80%-90%); en este caso, la definición exacta exige no solo la presencia de gérmenes en las vías urinarias, sino también su cuantificación en al menos 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/ mL de orina (Echeverría, Sarmiento, & Osorio, 2006).

El término “bacteriuria” se define como la presencia de bacterias en la orina, mayor o igual a 10^5 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (Alvarez, 2007).

Tipos de Infección de Tracto Urinario

- ❖ Cistitis: es un diagnóstico clínico que se basa en los síntomas de poliuria / necesidad imperiosa de orinar y dolor vesical, siendo inflamación de la mucosa de la vejiga urinaria a menudo provocada por una infección de la bacteria *Escherichia coli* (CAMPELL, 2008).
- ❖ Nefritis: es un proceso inflamatorio difuso de los glomérulos renales teniendo como base un fenómeno inmunológico (CAMPELL, 2008).
- ❖ Pielonefritis: es la presencia de dolor en la fosa renal, náuseas y vómitos, fiebre ($> 38^\circ\text{C}$) o hipersensibilidad en el ángulo costovertebral (M, 2010).

5.2. ETIOLOGÍA.

La infección urinaria complicada sucede en pacientes que presentan alteraciones para el libre flujo de la orina y/o mayor susceptibilidad individual para padecer infecciones. El principal agente etiológico de la infección de tracto urinario es *Escherichia coli* (Ruiz & Perea, 2010).

5.3. ENTEROBACTERIAS.

Las *enterobacteriáceas* son un grupo grande de bacilos Gram negativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros. Algunos microorganismos

entéricos como *Escherichia coli* forman parte de la flora normal e incidentalmente causan enfermedad. Son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos (Jawetz, Melnick, & Adelberg)

Estas bacterias se recuperan con mayor frecuencia en las muestras clínicas. Por lo tanto, los miembros de *Enterobacteriáceas* pueden estar implicados en casi cualquier tipo de enfermedad infecciosa y recuperarse de cualquier muestra recibida en el laboratorio (Koneman, 2008)

Los pacientes inmunodeprimidos o debilitados son muy sensibles a las infecciones adquiridas en el hospital, ya sea después de la colonización con cepas ambientales o luego de ser sometidos a procedimientos invasivos como son el cateterismo, broncoscopias, colposcopia o biopsias quirúrgicas en las cuales se traumatizan o se seccionan las mucosas (Koneman, 2008)

- ***Klebsiella pneumoniae*.**

Se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas. Produce una pequeña proporción de las neumonías bacterianas y puede causar condensación necrosante hemorrágica extensa del pulmón. En ocasiones provoca infección del aparato urinario y bacteriemia a partir de las lesiones fecales en pacientes debilitados (Jawetz, Melnick, & Adelberg)

- ***Proteus*.**

Las especies de *Proteus* producen infecciones en humanos sólo cuando la bacteria abandona el intestino. Se les encuentra en infecciones del aparato urinario y producen bacteriemia, neumonía e infecciones fecales en pacientes debilitados o en quienes son tratados con infusiones intravenosas. *Proteus mirabilis* causa infecciones del aparato urinario y en ocasiones otras infecciones.

Las especies de *Proteus* producen ureasa y por consiguiente, hidrolizan con rapidez la urea con liberación de amonio. Así, en las infecciones del aparato urinario con *Proteus*, la orina se vuelve alcalina, lo cual promueve la formación de cálculos y es casi imposible acidificar la orina. La rápida motilidad de *Proteus* puede contribuir a su capacidad para invadir el aparato urinario.

Las cepas de *Proteus* varían mucho en la susceptibilidad a los antibióticos. El *Proteus mirabilis* casi siempre se inhibe con penicilinas, los antibióticos más activos para otros miembros del grupo son los amino glucósidos y las cefalosporinas (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

- ***Citrobacter.***

Puede causar infección del aparato urinario y septicemia. (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

Los miembros del género *Citrobacter* se denominan así por su capacidad para usar citrato como su única fuente de carbono. Se diferencian por su capacidad para convertir el triptófano en Indol, fermentar la lactosa y utilizar malonato. *C. freundii* produce H₂S de ahí que pueda confundirse con *Salmonella*. El tracto urinario es el lugar de origen más frecuente de los cultivos de *Citrobacter*, a menudo asociado a un catéter insertado. Estas bacterias también pueden cultivarse a partir de las vías respiratorias, un hallazgo que representa con más frecuencia colonización que infección sintomática. Además, las cepas de *Citrobacter* están implicadas en infecciones intra abdominales, infecciones de tejidos blandos y osteomielitis. *C. diversus* ha provocado frecuentes brotes nosocomiales de meningitis neonatal. Las cepas de *C. freundii* tienen genes ampC inducibles que codifican la resistencia a la ampicilina y cefalosporinas de primera generación (Puerta-García & Rodríguez, 2010).

- ***Providencia.***

Las especies de *Providencia* (*Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* y *Providencia stuartii*) son miembros de la flora intestinal normal. Todas causan infecciones del aparato urinario y en ocasiones otras infecciones: casi siempre son resistentes a la terapéutica antimicrobiana (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

5.4. *Escherichia coli.*

Escherichia coli es bioquímicamente activa, es la especie de bacteria recuperada con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que afectan a cualquier tejido y en sistema orgánico humano. Es uno de los microorganismos más frecuentes involucrados en la sepsis por gram negativos (Koneman, 2008).

5.4.1. Clasificación.

- ***Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC):** Colonizan la mucosa del intestino delgado por fibras denominadas CFA (colonization factor antigens) siendo su principal mecanismo de patogenicidad la síntesis de alguna o ambas enterotoxinas llamadas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST). La *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) es importante en lactantes, principalmente en niños menores de dos años, y en los niños produce diarrea es de 10 a 30%. En los niños en edad escolar y en adultos puede ser asintomática y poco frecuente o producir la diarrea del viajero (Rodríguez & Angeles, 2002).
- ***Escherichia coli* Entero hemorrágica:** Este tipo de bacteria se caracteriza por producción de diarrea con sangre, dolor abdominal, y poco o nada de fiebre. Este es producida por la ingestión de carne cruda o mal cocida (Rodríguez & Angeles, 2002).
- ***Escherichia coli* enteroinvasiva:** es descarboxilasa negativa, no móviles y lactosa negativa, esta invade el colón, para ello esta se adhiere a las vellosidades de la mucosa requiriendo adecinas y mucinas, para después entrar por endocitosis a la célula y posterior multiplicación de esta y diseminación a células sanas (Rodríguez & Angeles, 2002).
- ***Escherichia coli* enteropatógena:** Se caracteriza porque cuenta con un proceso de adherencia con la membrana de la célula del epitelio intestinal, produciendo la destrucción de la microvellosidad con polimerización de actina. Este grupo afecta principalmente a niños menores de seis meses y a los de dos años. También puede aislarse en adultos enfermos y sanos, principalmente cuando hay un factor predisponente como diabetes. La forma de transmisión de la enfermedad es fecal-oral por manos contaminadas de manipuladores de alimentos (Rodríguez & Angeles, 2002).

5.4.2. Características morfológicas y tintoriales.

- Bacilo Gram negativo.
- No forma esporas
- Móviles (flagelos peritricos).

- Miden 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo.
- Catalasa positivo.
- Oxidasa negativo.
- Reducen nitratos a nitritos.
- Producen vitamina B y K.
- Se diferencia de las otras *Escherichia coli* en que no fermenta el sorbitol, no crece a 44 °C y no produce β -glucoronidasa (Méndez, 2013).

5.4.3. Características nutricionales.

- No exigente.
- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas.
- Es anaerobio facultativo

5.4.4. Características coloniales.

Escherichia coli forman colonias, lisas, circulares, convexas con bordes bien diferenciados. Forma colonias con un brillo metálico sobre agar EMB (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

5.4.5. Características de crecimiento.

Escherichia coli ocasiona reacciones positivas para Indol, fermentación de manitol y produce gas a partir de glucosa. Los aislados en orina pueden identificarse con rapidez como *Escherichia coli* por la hemólisis sobre agar sangre. Prueba positiva para Indol (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

5.5. PATOLOGÍA

Las manifestaciones clínicas de las infecciones por *Escherichia coli* y otras bacterias entéricas dependen del sitio infectado y por los síntomas y signos no pueden diferenciarse de los procesos causados por otras bacterias.

Puede causar:

- **Infecciones de vías urinarias:** *Escherichia coli*, es la causa más común de infección del aparato urinario y es responsable de casi 90% de las infecciones urinarias primarias en mujeres jóvenes. Los síntomas y signos incluyen poliuria, disuria y hematuria y piuria. El dolor en el flanco se asocia con infección de la parte superior del aparato. Las infecciones de

las vías urinarias pueden provocar bacteriemia con signos clínicos de septicemia (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

- **Enfermedades diarreicas:** La *Escherichia coli* es la causante principal de diarrea y es muy común en todo el mundo (Jawetz, Melnick, & Adelberg).
- **Septicemia:** Cuando las defensas normales del huésped son inadecuadas *Escherichia coli* puede alcanzar el torrente sanguíneo y causar septicemia. Los recién nacidos es muy común debido a que ellos carecen de anticuerpos de IgM (Jawetz, Melnick, & Adelberg).
- **Meningitis:** la *Escherichia coli* y los estreptococos del grupo B son los principales causantes de meningitis en los lactantes (Jawetz, Melnick, & Adelberg).

5.6. DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN DE TRACTO URINARIO.

El principal examen que se realiza para el diagnóstico presuntivo de Infección de Tracto urinario es el Elemental y Microscópico de Orina (EMO), análisis preliminar que determina si existe bacteriuria requisito importante para la realización del Urocultivo; este último está basado en la presencia de un número significativo de bacterias (generalmente >100.000 bacterias/ml.). La piuria, junto con la bacteriuria, es un dato muy importante para el diagnóstico de infección del tracto urinario, ya que prácticamente está presente en todas las infecciones urinarias (Koneman, 2008).

La morfología de las colonias que crecen en un medio sólido también nos ayuda a proporcionar información sobre el tipo de microorganismo existente (Koneman, 2008).

- **Elemental Microscópico de Orina (EMO):** El examen constituye una parte vital del análisis de orina de rutina. Es una herramienta diagnóstica valiosa para la detección y evaluación de trastornos renales y del tracto urinario, así como de otras enfermedades sistémicas.

La mejor muestra para el análisis de orina de rutina es la primera micción de la mañana ya que proporciona el medio concentrado y ácido necesario para mantener las estructuras presentes en la muestra; Otros parámetros que se toman en cuenta en el examen son: pH, densidad, color y aspecto de la muestra (Graff, 2011).

El examen microscópico debe de hacerse en una muestra centrifugada. Se mezcla la muestra y se coloca aproximadamente entre 10-15 ml de orina en un tubo de centrifugación. Se

centrifuga a 2000 rpm durante unos 5 minutos, luego se elimina el líquido sobrenadante y se suspende el sedimento en la orina y se coloca una gota entre un porta objetos y un cubre objetos para proceder a leer en el microscopio (Graff, 2011).

5.6.1. Medios de Cultivo.

- **Agar Sangre:** Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos. Al ser suplementado con sangre ovina, permite el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis (BRITANIALAB L.).
- **Agar MacConkey:** Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos a partir de muestras clínicas, aguas y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo (BRITANIALAB).
- **Caldo Mueller Hinton:** Medio nutritivo que favorece el crecimiento de diversos microorganismos. Se utiliza para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los microorganismos frente a los antimicrobianos. Al igual que su presentación en forma de agar, el caldo Mueller Hinton presenta buena reproducibilidad de los resultados lote a lote y tiene un bajo contenido de inhibidores especialmente para sulfamidas, trimetoprima y tetraciclinas. Puede ser suplementado para permitir el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales. Con el agregado de sangre se evalúan ciertas especies de estreptococos y con el agregado de determinados cationes se evalúa el crecimiento de Pseudomonas frente a aminoglucósidos (BRITANIALAB).

5.6.2. Pruebas Bioquímicas

Las pruebas bioquímicas o baterías están compuestas por un conjunto de azúcares, los que son necesarios para el desarrollo de enterobacterias las mismas que necesitan un medio donde crecer y así producir diferentes reacciones.

- **Medio SIM:** Medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de Indol y de sulfuro de hidrógeno por los microorganismos. Es útil para diferenciar miembros de la familia Enterobacteriaceae (MEDIOSIM).
- **TSI Agar (TRIPLE SUGAR IRON AGAR)** Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de los hidratos de carbono glucosa, lactosa y sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico (AGARTSI).
- **LISINA HIERRO AGAR:** Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, especialmente *Salmonella spp.*, basado en la decarboxilación y desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico.

En el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas decarboxilasa y deaminasa. El purpura de bromocresol, es el indicador de pH, el cual es de color amarillo a pH igual o menor a 5.2, y de color violeta a pH igual o mayor a 6.8.

Por decarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta. La decarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada. Los microorganismos que no producen lisina decarboxilasa, pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al amarillo, pero a las 24 horas de incubación se observa el pico de color violeta debido al consumo de las peptonas, y el fondo amarillo (LISINA).

- **Medio Ureasa:** Medio utilizado para la identificación de microorganismos en base a la actividad ureásica. Es particularmente útil para diferenciar *Proteus spp.* de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae. Este medio de cultivo, presenta bajo contenido de nutrientes y alta capacidad buffer. Las sales de fosfatos constituyen el sistema buffer, el rojo de fenol es el indicador de pH y la urea es el sustrato de la enzima ureasa. Aquellas bacterias que poseen la

enzima ureasa, pueden utilizar el nitrógeno proveniente de la urea, la hidrolizan, liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos metabólicos alcalinizan el medio, haciendo virar el indicador rojo fenol del amarillo al rojo (MEDIIOUREASA).

- **SIMMONS CITRATO:** Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino y el agar es el agente solidificante. El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarbóxico. El desdoblamiento del citrato genera progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa (SIMMONSCITRATO).

5.6.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefotaxima.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en $\mu\text{g/mL}$) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C (Quintana, Silva, Vicente, & Tamariz, 2005).

Las pruebas de actividad inhibitoria de los antibióticos están ideadas para bacterias que crecen bien después de una incubación de una noche en aire y tienen pruebas de sensibilidad imprevisible. Las bacterias con requerimientos nutricionales especiales, que crecen más lentamente o necesitan suplementos nutricionales o atmosféricos, deben ser evaluadas con antibiogramas por dilución sólo cuando el uso cuidadoso de las cepas bacterianas de control demuestra la ausencia de efectos inhibitorios sobre las interacciones (Koneman, 2008).

Se han diseñado varios tipos de pruebas de sensibilidad a los antibióticos (antibiogramas). Las dos pruebas de referencia son los procedimientos por dilución macroscópica en caldo y por dilución en agar. Ambos están ideados para cuantificar la concentración mínima de un

antibiótico que inhibe el crecimiento visible in vitro del microbio: la concentración mínima inhibitoria (CIM). La prueba más utilizada para guiar el tratamiento con antibióticos es el antibiograma por difusión con discos (prueba de Bauer-Kirby), en el cual las interpretaciones clínicas se derivan de las correlaciones con la prueba de referencia (Koneman, 2008).

En los últimos años, una cantidad creciente de laboratorios han utilizado de rutina una prueba en caldo miniaturizada (prueba por microdilución en caldo) o un sistema comercial automatizado (Koneman, 2008).

La prueba por microdilución en caldo se ha difundido tanto y ha sido tan bien estudiada que se convirtió en el patrón de referencia para muchos investigadores (Koneman, 2008).

Antimicrobiano	Criterios de Interpretación CLSI 2010					
	Difusión en disco (mm)			Concentración Inhibitoria Mínima µg/mL		
	S	I	R	S	I	R
Cefotaxima	≥ 26	23-25	≤ 22	≤ 1	2	≥ 4
Ceftriaxona	≥ 23	20-22	≤ 19	≤ 1	2	≥ 4
Ceftazidima	≥ 21	18-20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16
Ceftizoxima	≥ 25	22-24	≤ 21	≤ 1	2	≥ 4
Aztreonam	≥ 21	18-20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16

Fuente: Valores referenciales de la Concentración mínima inhibitoria mediante criterios de CLSI 2010 (Ovalle, 2011)

5.6.3.1. Métodos laboratoriales para medir la resistencia bacteriana.

5.6.3.1.1. Dilución en caldo.

Se aplica un medio de cultivo líquido, se toman de 7 a 10 tubos que tienen la misma cantidad de caldo nutritivo. A cada uno de ellos se le añade una cantidad de antibiótico de manera de obtener diluciones dobles y progresivas de agente antimicrobiano. Los tubos se inoculan con una suspensión calibrada del microorganismo en estudio (de manera que garantice una misma cantidad de bacterias en cada tubo) y se incuban durante 18 horas a 35°C. Uno de los tubos no contiene antibiótico y sirve como control de desarrollo o testigo. En aquellos tubos donde la bacteria se desarrolla y multiplica aparece turbidez. En cambio cuando el antibiótico inhibe el

crecimiento, la masa líquida del medio de cultivo aparece clara. Esto determina un punto de ruptura en el crecimiento bacteriano que introduce el término de CONCENTRACION MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) (López & Torres, 2006).

5.6.3.1.2. Difusión en agar.

El medio de cultivo es sólido. Este sistema permite probar la eficacia de varios antibióticos al mismo tiempo. Sobre la superficie de una placa de agar se realiza la siembra de una suspensión bacteriana calibrada y a continuación se depositan sobre ella discos de papel de filtro impregnados de antimicrobianos (discos para antibiograma disponibles en el comercio). Tan pronto como el disco toma contacto con la superficie húmeda del agar, el agua es absorbida por el papel de filtro y el antibiótico difunde hacia el medio circundante creando así concentraciones progresivamente decrecientes. Se observa como a medida que la distancia al disco aumenta hay una reducción logarítmica de la concentración del antibiótico. Así, al cabo de 18 horas de incubación, en aquella zona donde el antibiótico es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria aparece un halo alrededor del disco: halo de inhibición (López & Torres, 2006).

5.6.3.1.3. Método de E-Test.

Este es un método cuantitativo que mediante lectura directa hay como determinar la concentración mínima inhibitoria. Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco. Siguiendo el método de difusión, una vez inoculado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. Después de la incubación la CMI será el valor donde la elipse corta la tira. Las tiras deben conservarse a menos de 20°C y deben estar protegidas de la humedad. Antes de usarse se deben atemperar a temperatura ambiente durante por lo menos 30 minutos. No se deben mover las tiras una vez que han sido colocadas, ya que el antibiótico empieza a difundir rápidamente. No se deben colocar más de 6 tiras. Se incuba durante 16 a 20 horas a 37°C o según los requerimientos óptimos de la cepa

bacteriana en estudio. Si colocamos la tira al revés no se observa elipse de inhibición, ya que el gradiente de concentraciones se sitúa solo sobre una de las caras de la tira (Taroco, Seija, & Vignoli, 2012).

5.6.3.1.4. Métodos automatizados.

La mayoría de estos métodos utilizan sistemas de microdilución en medio líquido sobre microplacas con pocillos en "U" e interpretan el crecimiento bacteriano en los diferentes pocillos por medio de un auto-analizador (mediciones por turbidez o fluorescencia). Son sistemas fáciles y rápidos, generalmente automatizada o semi-automatizada. Son métodos ideales para grandes volúmenes de trabajo. Una de sus grandes limitaciones es que sólo ofrecen garantía para investigar microorganismos de crecimiento rápido y que no tengan requerimientos especiales (Andreu, Chacho, Coira, & Lepe, 2010).

5.7. TRATAMIENTO

El tratamiento de la Infección de Tracto Urinario (ITU) depende de si es complicada o no complicada y siempre se debe tener en cuenta a los factores de riesgo como el embarazo, diabetes mellitus, edad avanzada entre otras. Es importante seleccionar en forma empírica hasta que se cuente con el resultado del urocultivo y antibiograma un antibiótico con alta eficacia sobre el agente sospechado, muy buena distribución corporal, alta concentración en las vías urinarias y con toxicidad baja evitando también la resistencia a los antibióticos (Echeverría, Sarmiento, & Osore, 2006).

Cuando se elige un beta-lactámico, el éxito terapéutico depende del tiempo en que la concentración del antimicrobiano permanece por encima de la concentración mínima inhibitoria (CMI); por tanto, cuanto mayor es el tiempo que la concentración del antibiótico está por encima del (CMI), mejor será el resultado terapéutico (Echeverría, Sarmiento, & Osore, 2006).

5.7.1. Tipos de Antibióticos utilizados para Infección de Tracto Urinario.

Los principales antibióticos utilizados en infección de tracto urinario son:

- **Quinolonas:** utilizadas para infección urinarias bajas. Adquiere buena concentración en orina pero en sangre no, entre ellas tenemos Norfloxacin, y ciprofloxacina) (Tratamiento, 2012).
- **Aminoglucósidos:** Son antibióticos bactericidas, especialmente activos frente a bacilos gramnegativos. Se los usa durante breves períodos por sus potenciales efectos tóxicos, especialmente durante el embarazo (Tratamiento, 2012).
- **Aminopenicilinas/inhibidores de la betalactamasa (IBL).** Aunque pueden ser útiles contra enterobacilos (*E. coli*, *Proteusspp*, *Klebsiella pneumoniae*), el nivel de cepas resistentes no permite usarlos en forma empírica, sino después de conocida la sensibilidad del germen. Son útiles en la embarazada por carecer de efectos tóxicos para el feto (Tratamiento, 2012).
- **Trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX).** Aunque por el alto nivel de cepas resistentes no está indicado para un tratamiento empírico, es muy útil cuando se conoce que el germen es sensible, pues los elimina del reservorio de origen (vagina) con lo que se disminuye el riesgo de recaídas (Tratamiento, 2012).
- **Fosfomicin-trometamol.** Alcanza buenas concentraciones urinarias y es bactericida contra las bacterias grampositivas y gramnegativas que con mayor frecuencia producen IU (Tratamiento, 2012).
- **Nitrofurantoina.** Es antiséptico y alcanza buenas concentraciones urinarias, pero no a nivel de los reservorios. No es aconsejada en el primer trimestre de embarazo (Tratamiento, 2012).

5.7.2. Cefalosporinas.

Las de **primera generación (cefalexina, cefradina)** son activas contra enterobacilos sensibles. Por el alto nivel de resistencias que han adquirido estos gérmenes, no se las incluyen en los planes empíricos de tratamiento. Son útiles cuando se conoce que el agente es sensible y en la embarazada porque no son tóxicas para el feto. Las de segunda generación (**cefuroxime, cefuroxime-axetil**) y las de 3ª generación (**ceftriaxone y cefotaxime**) tienen una actividad antibacteriana similar frente a los microorganismos que con mayor frecuencia producen IU. Para racionalizar el uso de las cefalosporinas, evitar sobreinfecciones y desarrollo de resistencias, debieran usarse las de 2ª generación para infecciones leves o moderadas y las de 3ª generación para infecciones más graves y bacteriémicas (Tratamiento, 2012).

- **Cefotaxima.**

La cefotaxima es la primera cefalosporina de tercera generación y, al igual que otros antibióticos de este mismo grupo, es más activa y tiene un espectro de actividad más amplio que las cefalosporinas de primera y segunda generación. La cefotaxima es activa frente a algunas cepas de estafilococos resistentes a la meticilina y se administra por vía parenteral, está se utiliza en el tratamiento de las infecciones entéricas debidas a gram-negativos, meningitis, bacteremias graves y neumonía.

Mecanismo de acción.

Al igual que otros antibióticos beta-lactámicos, la cefotaxima es bactericida. Inhibe el tercer y último paso de la síntesis de la pared bacteriana, uniéndose específicamente a unas proteínas denominadas PBPs (del inglés "penicillin-bindingproteins"). La cefotaxima depende de su capacidad para llegar y fijarse a las PBPs. Una vez fijado el antibiótico a estas proteínas, la síntesis de la pared bacteriana queda interrumpida y la bacteria experimenta autólisis. La lisis de la bacteria se lleva a cabo gracias a determinadas enzimas (las autolisinas) (Equipo de redacción IQB, 2012).

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1. TIPO DE ESTUDIO

- Es un estudio descriptivo y de corte transversal.

6.2. ÁREA DE ESTUDIO:

- La investigación se realizó en el HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA, ubicado en las calles Colón entre Bolívar y Bernardo Valdivieso.

6.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

6.3.1. Universo

Todas las muestras de orina de Consulta Externa con pedido de Urocultivo del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja. Se procesaron 146 muestras de las cuales 63 tuvieron crecimiento bacteriano mayor a 100.000 UFC (Unidad Formadora de Colonias)

6.3.2. Muestra

Se incluyeron 47 Urocultivos positivos a *Escherichia coli* en el periodo Marzo – Mayo 2015.

6.4. CRITERIOS.

6.4.1. Criterios de Inclusión

Para que sea parte de este estudio se tomó en cuenta:

1. Pacientes que acudieron a consulta externa para ser atendidos y que tengan pedido de Urocultivo.
2. Pacientes que firmaron el consentimiento Informado. **Anexo 2.**
3. Muestra de orina que fue recolectada en óptimas condiciones basándose en el protocolo establecido en el **Anexo 4.**
4. Cultivos de muestras de orina de los pacientes que fueron positivos para *Escherichia coli spp.* **Anexo 18.**

6.4.2. Criterio De Exclusión

1. Muestras de orina recolectada en malas condiciones.
2. Cultivos sin crecimiento de *Escherichia coli spp.*

6.5. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS:

Para poder realizar el presente trabajo se debe de cumplir con las tres fases específicas:

6.5.1. Fase Pre – Analítica.

- Autorización del Director Del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja. y así poder realizar el presente estudio (**Anexo 1**)
- Aplicación del Consentimiento Informado para poder obtener de cada paciente el permiso correspondiente para formar parte del estudio. (**Anexo 2**)
- Registro de datos de los pacientes que fueron atendidos y que se les envió pedido para urocultivo. (**Anexo 3**)
- Entrega de protocolo a cada paciente para el procedimiento de toma de muestra de Orina. (**Anexo 4**)
- Se realizó la preparación de Agar Sangre, Agar Macconkey, y Caldo de MuellerHinton. (**Anexo 5**) (**Anexo 6**) (**Anexo 7**), también se preparó los materiales necesarios para la aplicación de la técnica de Concentración Mínimo Inhibitoria.

6.5.2. Fase Analítica.

- Validación de metodología y control de calidad mediante la utilización de la cepa control de *E. coli* ATCC 25922 (**Anexo 8**)
- La técnica de Urocultivo se realizó utilizando dos medios, Agar Sangre más Hemoglobina, este medio resulta muy rico que permite el crecimiento de todos los microorganismos con importancia clínica ya sea exigentes o no exigentes, y agar Macconkey medio que se utiliza para el aislamiento de bacterias Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. (**Anexo 9**)
- Tinción de Gram se la utilizó para poder observar los bacilos Gram negativos a los cuales *Escherichia coli* pertenece (**Anexo 10**)
- Para la identificación de *Escherichia coli* fue necesario utilizar pruebas bioquímicas entre ellas se utilizó, CITRATO (**Anexo 11**), SIM (**Anexo 12**), LIA (**Anexo 13**), UREA (**Anexo 14**), TSI (**Anexo 15**), la prueba de oxidasa (**Anexo 16**), pero también fue necesario utilizar el reactivo Indol para confirmar la presencia de la bacteria. Las pruebas bioquímicas que daban Indol positivo se las identificó como *Escherichia coli* spp. La lectura y la

interpretación de resultados se comparó con la cepa control adquirida de *E. coli* ATCC 25922. Esta cepa control se sembraba cada 3 días para para realizar la comparación con los resultados obtenidos a diario.

- Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima frente a cepas de *Escherichia coli spp* por la técnica de Macrodilución. (**Anexo 17**)

6.5.3. Fase Post – Analítica.

- Formato de registro de resultados de las pruebas bioquímicas. (**Anexo 18**)
- Registro interno de resultados de Concentración Mínima Inhibitoria. (**Anexo 19**)
- Certificado de cumplimiento de haber realizado el muestreo respectivo en el área de Laboratorio Clínico. (**Anexo 20**)
- Entrega de resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima. (**Anexo 21**)
- Socialización de resultados. (**Anexo 22**).
- Fotografías de los procedimientos realizados. (**Anexo 23**)

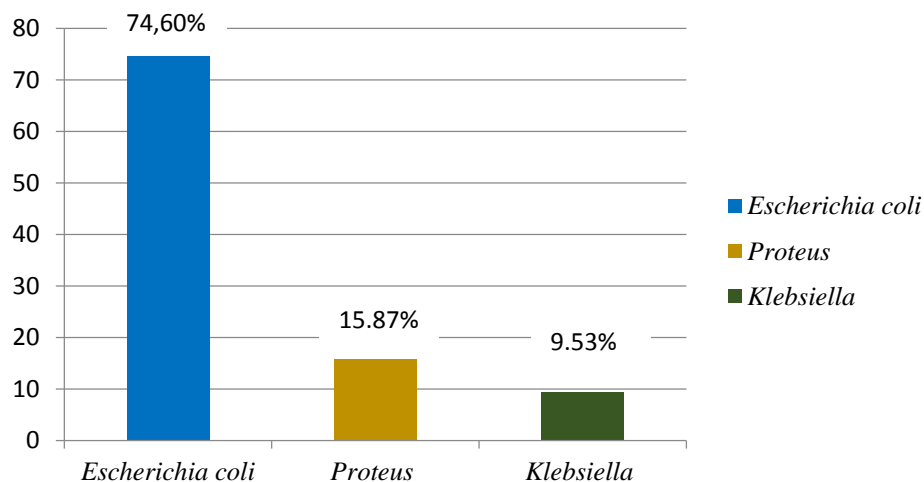
7. RESULTADOS

7.1. RESULTADOS PARA EL PRIMER OBJETIVO: Realizar urocultivo a todos los pacientes que acuden a Consulta Externa del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja.

Cuadro N° 1. Microorganismos identificados en urocultivos de pacientes de Consulta Externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja. 2015.

MICROORGANISMO IDENTIFICADO	FRECUENCIA	(%)
<i>Escherichia coli</i>	47	74.60
<i>Proteus</i>	10	15.87
<i>Klebsiella</i>	6	9.53
TOTAL	63	100

FUENTE: Resultados de Análisis de Laboratorio.
INVESTIGADOR: Liliana del Cisne Jima Solano.



FUENTE: Resultados de Análisis de Laboratorio.
INVESTIGADOR: Liliana del Cisne Jima Solano.

Figura N° 1. Microorganismos identificados en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja. 2015.

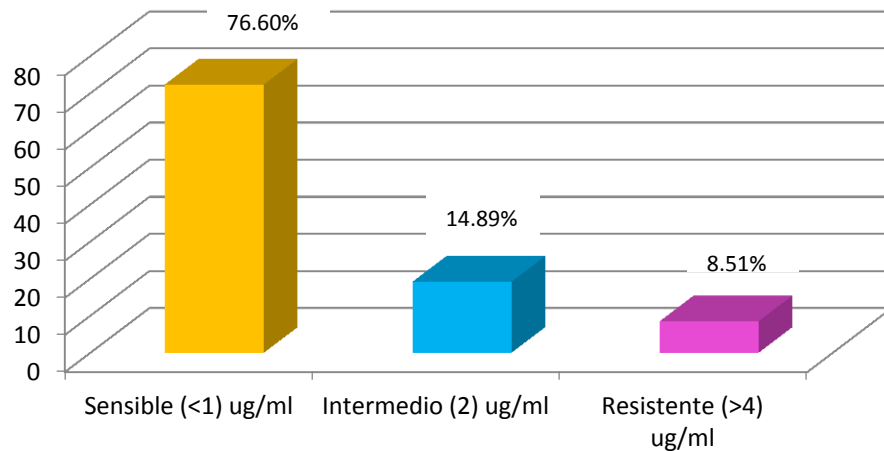
INTERPRETACIÓN: De los 146 pacientes que se les realizaron urocultivos, 63 muestras tuvieron crecimiento bacteriano, de las cuales 47 cultivos dieron positivo para *Escherichia coli spp.* Se observó que el agente patógeno principal causante de infección de tracto urinario es *Escherichia coli spp.*, con un 74.60%, seguido de *Proteus spp.*, con un 15.87% y *Klebsiella spp.* con 9.53%.

7.2. RESULTADOS PARA EL SEGUNDO OBJETIVO: Establecer la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefotaxima en el Crecimiento Bacteriano de las cepas de *Escherichia coli spp* aislada en urocultivos realizados de Marzo – Mayo del 2015.

Cuadro N°2. Concentración mínima inhibitoria de cefotaxima frente a cepas de *Escherichia coli spp.*

CMI DE CEFOTAXIMA FRENTE A <i>Escherichia coli.</i>	FRECUENCIA	(%)
SENSIBLE (≤ 1) ug/ml	36	76.60
INTERMEDIO (2) ug/ml	7	14.89
RESISTENTE (≥ 4) ug/ml	4	8.51
TOTAL	47	100

FUENTE: Resultados de Análisis de Laboratorio.
 INVESTIGADO POR: Liliana del Cisne Jima Solano.




FUENTE: Resultados de Análisis de Laboratorio.
 INVESTIGADO POR: Liliana del Cisne Jima Solano.

Figura N°2. Concentración mínima inhibitoria de cefotaxima frente a cepas de *Escherichia coli.*

INTERPRETACIÓN: De las 47 muestras confirmadas para *Escherichia coli spp.*, el 76.60% fueron sensibles para el antibiótico, 14.89% tienen sensibilidad intermedia y el 8.51% de las cepas son resistentes lo que indica que el antibiótico puede ser utilizado frente a bacterias Gram negativas como *E. coli* y se lo puede considerar como un antibiótico de elección para tratar las Infecciones de Tracto urinario.

7.3. RESULTADOS PARA DAR CUMPLIMIENTO AL TERCER OBJETIVO: Difusión de Resultados obtenidos a las autoridades del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja.

CONCLUSIONES	RECOMENDACIONES	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
<p>◆ El desarrollo de métodos estandarizados de susceptibilidad antimicrobiana, a pesar de las dificultades que presentan, constituyen un notable avance en la terapia de infecciones bacterianas, sobre todo las que comprometen la vida del paciente. Actualmente se cuenta con puntos de corte para varios antimicrobianos de uso clínico y para bacterias frecuentemente aisladas de infecciones de vías urinarias.</p> <p>◆ Con la información obtenida de los métodos estandarizados se ha podido detectar cepas intrínsecamente resistentes a los antimicrobianos y cepas con CIMs más elevadas que lo habitual, asociado a falla terapéutica</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Destacar la prevención y tratamiento adecuado en las infecciones principalmente la de vías urinarias, que este inmerso en el uso de los antibióticos, con charlas educativas dirigidos por profesionales de la salud debidamente aptos y capacitados, y de esta manera evitarla automedicación 2. Actualizar con mayor frecuencia nuevas investigaciones con la finalidad de conocer nuevos datos estadísticos acerca de la resistencia y/o sensibilidad bacteriana a los antibióticos para que tomen en cuenta al momento de prescribir fármacos 	 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA</p> <p>AREA DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO</p> <p>TEMA:</p> <p>CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE AMPICILINA, AMIKACINA, CEFTRIAXONE, CEFUROXIMA, CEFOTAXIMA, GENTAMICINA Y CIPROFLOXACINA FRENTE A ESCHERICHIA COLI AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA NRO. 7 LOJA</p> <p>LOJA- ECUADOR</p> <p>2015</p>

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de ampicilina, amikacina, ceftriaxone, cefuroxima, cefotaxima, gentamicina y ciprofloxacina frente a *Escherichia coli* en pacientes de consulta externa con solicitud de urocultivo del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja.

Objetivos específicos:

- Realizar urocultivo a partir de muestras de orina de pacientes que acuden a consulta externa que tengan petición de urocultivo en el Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de ampicilina, amikacina, ceftriaxone, cefuroxima, cefotaxima, gentamicina y ciprofloxacina en urocultivos de *Escherichia colisp* en muestras de orina de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja mediante la técnica de macrodilución.
- Difundir los resultados al personal médico del Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja.

DEFINICIONES

INFECCION DE VIAS URINARIAS: Se considera como infección del trato urinario a la presencia de microorganismo patógeno que puedan estar presentes con o sin síntomas, de ahí que las de origen bacteriano son las más frecuentes.

ESCHERICHIA COLI: La *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo, bacteria común que se encuentra en los intestinos de los animales y las personas y es la causa más frecuente de infección de vías urinarias y contribuye casi al 90% de las infecciones urinarias en mujeres jóvenes.

UROCULTIVO: Es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática en pacientes con riesgo de infección.

CIM: es la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo después de un tiempo de incubación que generalmente es de 24 horas.

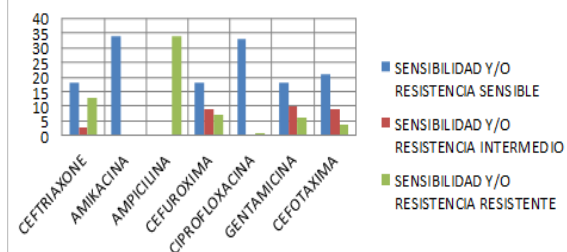
RESISTENCIA BACTERIANA: el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos

RESULTADOS

Sensibilidad y/o resistencia de ceftriaxone, amikacina, ampicilina, cefuroxima, ciproloxacina, gentamicina y cefotaxima frente a *Escherichia coli* en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja

ANTIBIOTICO	SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA			FRECUENCIA	PORCENTAJE
	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE		
CEFTRIAXONE	18	3	13	34	100%
AMIKACINA	34			34	100%
AMPICILINA			34	34	100%
CEFUROXIMA	18	9	7	34	100%
CIPROFLOXACINA	33		1	34	100%
GENTAMICINA	18	10	6	34	100%
CEFOTAXIMA	36	7	4	47	100%

SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA DE CEFTRIAXONE, AMIKACINA, AMPICILINA, CEFUROXIMA, CIPROFLOXACINA, GENTAMICINA Y CEFOTAXIMA FRENTE A *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA N° 7 LOJA



8. DISCUSIÓN

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública que se continúan dando cada día, debido a la ingesta inadecuada e irracional de los antibióticos, al desarrollo y acoplamiento de las bacterias frente a estos. Estos microorganismos desarrollan una amplia variedad de mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar el efecto que los antibióticos producen. Este trabajo se desarrolló en 146 muestras de orina a las que se les realizó urocultivo verificando crecimiento en 63 muestras de las cuales 47 de ellas fueron positivas para *Escherichia coli* con un 74,60%, seguido por *Proteus spp*, con el 15,87% y la *Klebsiella spp*, con 9,53%. En cuanto a la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima frente a *Escherichia coli spp* se observó que la bacteria es sensible con un 76,60%, tiene una sensibilidad intermedia con 14,89%, y resistente con un 8,51%.

Pozo A. en el año 2012, en un estudio realizado en Madrid por el método de microdilución demostró que la cepas de *Escherichia coli* posee una resistencia a las cefalosporinas de segunda y tercera generación como cefotaxima con una CIM mayor a 8mg/L. Al comparar el presente estudio realizado mediante método de Macrodilución que es similar al método antes mencionado se observa que *Escherichia coli* posee una sensibilidad ante el antibiótico cefotaxima con una CIM menor a 1mg/L que equivale al 76,60%, sensibilidad intermedia (14,89%). Sin embargo la resistencia es menor (8,51%) al estudio que realizó Pozo, esto se puede dar por la dosificación, miligramos que emplean cada profesional de salud para cada persona tomando en cuenta si es adulto o niño, también porque la utilización de cefotaxima es más frecuente en España que en Ecuador. La técnica de microdilución utiliza pequeños pocillos para realizar la CIM mientras que la técnica de macrodilución se realiza en grandes tubos manualmente (Angeles Pozo, 2012).

Páramo F. en el año 2013 realizó un estudio en México donde obtuvo que *Escherichia coli* es el agente patógeno principal que se encuentra causando infección de Tracto Urinario con un (91,5%), *Klebsiella pneumoniae* (2.1%), *P. aeruginosa* (2.1%), *E. aerogenes* (2.1%) y *Candida albicans* (2.1%). En todos los aislamientos de *E. coli* se identificaron cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE, 38.3%) y no BLEE (53.2%). Todas las cepas de *Escherichia coli* fueron sensibles a la nitrofurantoina y al aminoglucósido amikacina. Las cepas *E. coli* no BLEE fueron, además, sensibles a las cefalosporinas de tercera generación, ceftriaxona

y cefotaxima y al beta-lactámico imipenem. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que *Escherichia coli* sigue siendo uno de los agentes causales de Infección de Tracto Urinario (ITU) con un (74,60%), seguido de *Proteus spp* (15,87%) y *Klebsiella spp* (9,53%), sin embargo comparando con la investigación realizado por Páramo F. demuestra que existen otros microorganismos causante de (ITU) a más de los agentes etiológicos investigados como son *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, y *Candida albicans*.

Garzón J. en el año 2011 realizó un estudio en el Hospital Vicente Corral Moscoso en Cuenca donde 360 muestras fueron analizadas, 94 presentaron ITU (26,62%), siendo el agente etiológico más frecuentemente aislado *Escherichia coli*: 31,73%, seguido por *Estafilococo epidermides* con un 22,11%, luego *Enterobacter agglomerans* con un 12,5%. Al contrastar los resultados obtenidos se observa que *Escherichia coli* es el principal agente patógeno que afecta a la población, sin embargo otros agentes como *Proteus* y *Klebsiella* están presentes en este tipo de infecciones. Investigaciones realizadas en Cuenca – Ecuador muestran como principales agentes causales de Infección de Tracto urinario *Enterobacter agglomerans* y *Estafilococo epidermides*.

Tena D, mediante el método automatizado Vitek II en el año 2007 en España demostró que los antimicrobianos con mayor actividad frente a *E. coli* fueron cefotaxima, gentamicina, fosfomicina y nitrofurantoína, con porcentajes medios del 96,2%, 92,4%, 97,6% y 96,2%, respectivamente. Los promedios de sensibilidad a amoxicilina-ácido clavulánico y cefuroxima fueron similares (86,7 y 87,3%, respectivamente). Por el contrario, los porcentajes medios de sensibilidad a norfloxacino y ciprofloxacino fueron inferiores (75,3 y 75,4%, respectivamente). Los antimicrobianos con menor actividad frente a *E. coli* fueron ampicilina, ácido nalidíxico y cotrimoxazol, con promedios del 37,7%, 60,5% y 67,3%, respectivamente. Al comparar los resultados obtenidos se puede observar que la cefotaxima tiene acción bacteriana frente a *E. coli* con una sensibilidad ante el antibiótico de 76,60%, aquí se observa que en ambas investigaciones cefotaxima es un antibiótico de elección para el tratamiento de vías urinarias. Los dos métodos utilizados se asimilan ya que el automatizado Vitek II arroja resultados más rápidamente que la técnica de macrodilución, llegando al mismo propósito.

Álvarez L, en el 2006 en el Hospital Universidad del Norte en Colombia realizó un estudio en 235 urocultivos, los microorganismos aislados fueron: *Escherichia coli* (85.47%), *Proteus* (5.29%), *Enterobacter* (3.64%), *Estafilococo* (2.47%), *Klebsiella* (1.75%), *Serratia* (0.34%),

Citrobacter (0.34%), *Pseudomona* (0.34%), *Estreptococo* (0.34%). En la Investigación realizada se observa que los resultados son similares, el agente principal sigue siendo *Escherichia coli*, pero también existen otros microorganismos presentes, especialmente *Proteus*, y *Klebsiella* como en el estudio realizado. Todos los resultados guardan mucha similitud con estudios realizados en otras latitudes.

9. CONCLUSIONES

Una vez finalizado el presente trabajo investigativo he llegado a las siguientes conclusiones:

1. En el presente estudio se encontró que el agente causal más frecuente de infecciones del tracto urinario es *Escherichia coli*. con el 74,60%, en segundo lugar se encontró con un 15,87% *Proteus spp*, y *Klebsiella spp* con un 9,53%.
2. La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria, es de gran importancia ya que demuestra que cefotaxima es uno de los antibióticos de elección que puede ser utilizado para el tratamiento de Infección de Tracto urinario producido por *Escherichia coli* ya que esta mantiene una sensibilidad ante el antibiótico de 76,60% y una mínima resistencia de 8.51%.
3. La difusión de resultados impartida al personal médico que labora en el Hospital Militar Brigada N°7 Loja fue necesaria para exponer la resistencia bacteriana que los microorganismos (*Escherichia coli*) tienen ante los antibióticos (cefotaxima).

10. RECOMENDACIONES.

Una vez analizados todos los parámetros de este trabajo se sugiere lo siguiente:

1. A los profesionales de salud que en lo posterior sigan realizando estudios sobre la Concentración Mínima Inhibitoria de cefotaxima, ya que día a día se producen resistencias bacterianas ante los microorganismos.
2. Se sugiere que los profesionales de salud y médicos se mantengan en continua actualización sobre la importancia que tiene la resistencia bacteriana ante los antibióticos utilizados para el tratamiento de Infección de Tracto Urinario.
3. Se recomienda a las Autoridades y personal médico del Hospital Militar Brigada N°7 Loja difundan los resultados de este Trabajo Investigado para que conozcan la importancia y consecuencias que puede producir la automedicación o la ingesta incontrolada de medicamentos.

11. BIBLIOGRAFÍA.

AGARTSI. (s.f.). *BRITANIA*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/332_hoja_tecnica_es.pdf

Álvarez, E. H. (04 de 2010). *Universidad Complutense de Madrid*. Obtenido de <http://eprints.ucm.es/10442/1/T31499.pdf>

Alvarez, L. (18 de Mayo de 2007). *Scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v23n1/v23n1a03.pdf>

Andreu. (2008). Etiología de la infección urinaria baja y resistencia de Escherichia coli. a los antimicrobianos de primera línea. Barcelona.

Andreu, A., Chacho, J., Coira, A., & Lepe, J. (2010). *seimc.org*. Obtenido de http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/LabMicro/Antibiograma.html.

Alors, R., (2009). Estudio Microbiológico de Orina: Urocultivo. *Innovación y experiencias Educativas*. P. (1-2). Recuperado de: http://www.csi-csif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_14/ROSARIO_ALORS_2.pdf

ATCC Escherichia coli ATCC 25922. (2012). Inserto cepa control. Recuperado de: <file:///C:/Users/Maria%20Solano/Desktop/bibliografia%20reciente/25922.pdf>

BRITANIALAB. (s.f.). *BRITANIALAB*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/381_hoja_tecnica_es.pdf

BRITANIALAB, L. (s.f.). *BritaniaLab*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/236_hoja_tecnica_es.pdf

Braum, S. (2011). Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección . Recuperado de: [urinariohttp://www.scielo.cl/pdf/rci/v18n1/art08.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/rci/v18n1/art08.pdf)

CAMPELL, W. (2008). *UROLOGIA*. EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA.

Castellano, M., Gallegos, B., Gallegos, L., González, M., Báez, M. (1998). Concentración inhibitoria mínima de doce β -lactámicos por el método de e-test en patógenos nosocomiales / Inhibitory concentration minimal of twelve β -lactams for the e-test method in nosocomial pathogen., *Biblioteca Virtual en Saude*. Recuperado de: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=327383&indexSearch=ID>

Chiluisa, V., Coba, J., & Echeverría, A. (2014). Determinación Por Pcr En Tiempo Real De Escherichia Coli En Muestras De Comida Rápida. *Universidad Politécnica Salesiana* Recuperado de: http://lagranja.ups.edu.ec/documents/1317427/5897462/Lgr19_Chiluisa_Coba_Echeverria.pdf

Echeverría, J., Sarmiento, E., & Osoreo, F. (Enero de 2006). *ScieloPerú*. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172006000100006&script=sci_arttext&tlng=en

Encarnacion, M. (01 de 06 de 1994). *Cefalosporinas de Segunda y Tercera Generación*. Obtenido de file:///C:/Users/liliana/Downloads/BIT1994vol2n3.pdf

Equipo de redacción IQB. (04 de Marzo de 2012). *User-Deskop*. Obtenido de file:///C:/Users/liliana/Desktop/tesis%20de%20cefatoxima/CEFOTAXIMA%20EN%20VAD EMECUM.html

Espinoza, J. (2011). Manual de Protocolos y Procedimientos Generales de Enfermería. Obtención de Muestras de Orina. Recuperado de: http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/hrs3/fileadmin/user_upload/area_enfermeria/enfermeria/procedimientos/procedimientos_2012/rd7_obtencion_muestras_orina.pdf

Fangio, M., Iurlina, M & Fritz, R. (2007). Actividad Antimicrobiana de mieles del Sudeste de la provincia de Buenos Aires frente a Escherichia coli. *Scielo*. Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v39n2/v39n2a13.pdf>

Fernández, F., López, J., Ponce, L., (2003). Resistencia Bacteriana. *Revista Cubana de Medicina Militar. Scielo*. vol.8, n.1. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000100007

Galván A., Martínez, L., López, C., Villasuso, M., Saldaña, M., entre otros (2011). Permanencia de la Sonda de Foley Asociada a la Infección Urinaria y Farmacorresistencia. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. *Facultad de Ciencias Químicas*, vol.31 (122). Recuperado de: http://www.amimc.org.mx/revista/2011/31_4/permanencia.pdf.

Gracia, P. (2003). *Scielo*. Obtenido de http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182003020100002&script=sci_arttext

Graff, L. (2011). Análisis de Orina Atlas Color. Buenos Aires. 2da Edición. Editorial Medica Panamericana.

Guajardo, C., González, P., & Ayala, J., (2009). Resistencia antimicrobiana en la infección urinaria por Escherichia coli adquirida en la comunidad. ¿Cuál antibiótico voy a usar?.

Diciembre 22, 2014, de Scielo Sitio web: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0036-36342009000200012&script=sci_arttext&tlng=en

HIMEDIA, (2011). Blood Agar Base (Infusión Agar). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M073.pdf>

HIMEDIA, (2011). MacConkey Agar. Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/M081B.pdf>

HIMEDIA, (2011). Simmons Citrate Agar. Recuperado de: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/simmonscitagar.htm>

HIMEDIA, (2011). SIM Agar. Recuperado de: https://us.vwr.com/store/asset?assetURI=https://us.vwr.com/stibo/hi_res/std.lang.all/17/60/8041760.pdf

HIMEDIA, (2011). Agar lisina. Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M377.pdf>

HIMEDIA, (2011). Agar Urea. Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M112I.pdf>

HIMEDIA, (2011). Agar de Hierro de Triple Azúcar. Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/MM021.pdf>

Instructions for Use, 2015. OXISTRIPS™ OXIDASE STRIPS AND OXISTICKS™ OXIDASE SWABS Recuperado de: https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/OxiStripsOxisticks.htm

Iñón, I. (2010). Microbiología general. *Artículo pdf* Recuperado de: <http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/licenciatura/biotecnologia/2009/MicroBiol/introduccion.pdf>

Jawetz, Melnick, & Adelberg. (s.f.). *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. Bogota: El manual moderno Colombia Ltda.

Jehny Garzon, M. G. (10 de 06 de 2010). Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2473/1/tq1004.pdf>

Jehny Garzon, M. G. (30 de 6 de 2010). *Infeccion de Vias Urinarias en Mujeres del Hospital Vicente Corral Moscoso*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2473/1/tq1004.pdf>

Koneman, E. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina: Editorial Médica Panamericana.

- LISINA, H. (s.f.). *BRITANIALAB*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/286_hoja_tecnica_es.pdf
- López, L., & Torres, C. (2006). *Biologia.edur.ar*. Obtenido de <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp8.pdf>
- Laboratorios BD, (2012). BD Mueller Hinton Broth. Recuperado de: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=21202>
- MaccFaddin. Agar Sangre base con Azida. *BRITANIALAB*. Recuperado de: http://www.britanialab.com/productos/250_hoja_tecnica_es.pdf
- Martínez, M., (2004). Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Vol. 28 (137-138). Recuperado de: https://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol28_6infecciones.pdf.
- M, G. (2010). *Guía clínica sobre las INFECCIONES UROLOGICAS*. Obtenido de Guía clínica sobre las INFECCIONES UROLOGICAS: <http://uroweb.org/wp-content/uploads/17-GUIA-CLINICA-SOBRE-LAS-INFECCIONES-UROLOGICAS.pdf>
- MEDIOSIM. (s.f.). *BRITANIALAB*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/327_hoja_tecnica_es.pdf
- MEDIOUREASA. (s.f.). *BRITANIALAB*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/604_hoja_tecnica_es.pdf
- Méndez, A. (2013). *blog. Ciencia - Médicas.coom* . Obtenido de <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373>
- Malbran, C. (2001). Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Recuperado de: http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gss/publications/documents/argentina-leveli/manual_procedimientos.pdf
- Ministerio de Política social e igualdad. (2010). Cefotaxima. *Agencia española de Medicamentos y productos sanitarios*. Recuperado de: http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/63863/FT_63863.pdf
- Molina, J., Manjarrez, A., (2014). Infección de Vías Urinarias – *Escherichia coli*. *Universidad Nacional Autónoma de México*. Recuperado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/enfermedades-vias-urinarias.html>

Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J., Ochoa, T. (2011). Mecanismos moleculares de Resistencia Antibiótica en Escherichia coli Asociadas a diarrea. *Ministerio de Salud Publica Perú*, p. (648 – 649). Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>.

Murray, P., & Rosenthal, K. (2009). *Microbiología Médica*. Barcelona-España: Elsevier España, S.I.

Natalven Supra. (2013). E, coli una bacteria peligrosa. Recuperado de: <http://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/intoxicaciones-alimenticias/ecoli-una-bacteria-peligrosa-3696#>

Ochoa, S., Bouza, E., Pérez, C., & Inglada, L. (2005). Etiología De Las Infecciones Del Tracto Urinario Y Sensibilidad De Los Uro-patógenos A Los Antimicrobianos. *SCIELO* Recuperado de: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/18/2/124.pdf>

Ovalle, M. (2011). Resistencia Bacteriana y normas CLSI, Detección de Resistencia en Bacterias Gram Negativas. Recuperado de <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Presentaciones%20Resistencia/Actualizaci%C3%B3n%20en%20Resistencia%20Bacteriana%20y%20Normas%20CLSI%202010.pdf>

Páramo, F. (31 de 12 de 2015). *Servicio de Medicina Interna del Nuevo Sanatorio*. Obtenido de http://www.nietoeditores.com.mx/nieto/M.I./2015/ene-feb/art.original_resistencia.pdf

Prat, S. (2004). Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana por difusión en agar. diciembre 10, 2015, de Instituto de salud Pública de Chile Sitio web: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf

PIADEMECUM (2012). Cefotaxima. P, (1 – 5) Recuperado de: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Cefotaxima.pdf>.

Pineda, V. (2013). Incidencia de Infecciones de Vías urinarias en mujeres embarazadas entre 20 y 45 años de edad que asistieron al subcentro de salud "Nuevos Horizontes" año 2011. *Universidad Técnica de Machala*. Recuperado de: <file:///C:/Users/liliana/Downloads/156.pdf>

Quintana, H., Silva, M., Vicente, W., & Tamariz, J. (Enero de 2005). *ScieloPerú*. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2005000100007

Rene Zamora, A. A. (1 de 8 de 1998). *Cefalosporinas*. Obtenido de http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act05198.pdf

Rodriguez, G., & Angeles, M. (Octubre de 2002). *Scielo*. Obtenido de http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf

Ruiz, C., & Perea, B. (10 de 2010). *Facmed*. Obtenido de http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Urocultivo_coprocultivo_indicaciones_Medicine2010.pdf

Seija, V., Frantchez, V., Ventura, V., Pintos, M., & González, M. (2014). Factores Asociados Al Desarrollo De Infección Urinaria De Origen Comunitario Causada Por *Escherichia Coli* Resistente A Fluoroquinolonas. *Scielo*. Recuperado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014000400004

SIMMONSCITRATO. (s.f.). *BRITANIALAB*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/328_hoja_tecnica_es.pdf

Tamargo, I., Pérez, M., Toraño, G., & Ramírez, M. (2010). Resistencia a los antimicrobianos y vigilancia microbiológica en cuba. *Revista Panamericana*. Recuperado de: http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=WYZQkqFypo4C&oi=fnd&pg=PA116&dq=concentracion+minima+inhibitoria+cefotaxima&ots=tYn3aMj-kM&sig=s4ahBaa9QMZLL_aTcomILlqt_Sc#v=onepage&q=concentracion%20minima%20inhibitoria%20cefotaxima&f=false

Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (s.f.). *Higiene*. *edu.uy*. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>.

Tumbaco Galarza, A. M., & Martínez Cruz, L. R. (2013). Factores De Riesgo Que Influyen En La Predisposición De Infecciones Urinarias En Mujeres 15 – 49 Años Que Acuden Al Subcentro Virgen Del Carmen Del Cantón La Libertad 2012-2013. Recuperado de <http://repositorio.upse.edu.ec:8080/bitstream/123456789/1003/1/TESIS%20INFECCIONES%20%20URINARIAS.pdf>

Vidal, E., Lama, C., & Barros, C. (2012). Consenso sobre Infecciones del Tracto Urinario. *Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas*. P, (3-4, 7) Recuperado de: <http://www.samfyc.es/pdf/GdTenfinf/201208.pdf>.

12. ANEXOS

ANEXO 1

Loja, 20 de Febrero de 2015

Sr. Coronel de E.M. Edison Moreno
DIRECTOR DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro. 7 LOJA
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, **LILIANA DEL CISNE JIMA SOLANO**, portadora de la cédula de ciudadanía Nro. 110503207-0, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, por medio del presente me dirijo muy respetuosamente a Ud. para extenderle un fraterno saludo y desearle éxitos en sus funciones, a la vez me permito solicitarle comedidamente autorice a quien corresponda el permiso para poder realizar mi proyecto de tesis denominado: **“CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA FRENTE A *Escherichia coli* spp. AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro. 7 DE LA CIUDAD DE LOJA”**, además se me facilite las muestras de orina con pedido de urocultivo y el permiso correspondiente para poder hacer uso de las instalaciones y equipos a fin de realizar los análisis respectivos.

Por la gentil y favorable atención que se digne dar a la presente, le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente



Liliana Del Cisne Jima Solano
1105032070

ESTUDIANTE DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA



ANEXO 2



Fecha: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo*identificado con la cédula de ciudadanía Nro* *Declaro que he sido informado de los siguientes aspectos concernientes al estudio* **“CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA DE CEFUROXIMA, CEFTRIAZONE, AMPICILINA, CEFOTAXIMA, CIPROFLOXACINA, AMIKACINA, GENTAMICINA, FRENTE A *Escherichia coli spp.* AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA N°7 LOJA”** en el que participaré voluntariamente como sujeto:

1. La orina será utilizada para urocultivo el cual va a determinar si hay presencia de *Escherichia coli spp.* Si hay la presencia de esta bacteria, se realizará la concentración mínima inhibitoria de todos estos antibióticos que podrán ser usados para el **tratamiento de infección de vías urinarias.**
2. Los resultados de las pruebas no podrán ser divulgados con mi nombre sin mi autorización previa.
3. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto de tesis sin mi consentimiento.
4. Mi participación en este proyecto de tesis es de carácter voluntario, y en caso de no participar en él, esta decisión no afectará la relación médico-paciente

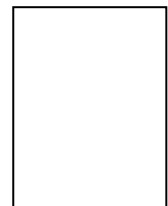
Yo.....**Como sujeto del estudio me comprometo a que toda la información que brinde será ajustada a la verdad.**

Declaro que estoy de acuerdo con descrito anteriormente y que participo voluntariamente y no he sido sometido a ninguna intervención con coacción en esta decisión. En constancia firmo a continuación:

Nombre:..... Firma:.....

Cédula de Ciudadanía N° Fecha:

HUELLA DIGITAL ÍNDICE DERECHO (en caso de pacientes que no sepan leer ni escribir)





Fecha: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

Sr/Sramayor de edad
con domicilioy cédula de ciudadanía Nro
..... padre/madre o representante de el/la menor
.....

MANIFIESTAN

Que consienten la participación de el/la menor _____ de
_____ años de edad, en el proyecto de investigación denominado: **“CONCENTRACIÓN
MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA, CEFTRIAZONE, AMPICILINA,
CEFOTAXIMA, CIPROFLOXACINA, AMIKACINA, GENTAMICINA, FRENTE A
Escherichia coli spp. AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA
EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA N°7 LOJA”**

1. La orina será utilizada para urocultivo el cual va a determinar si hay presencia de *Escherichia coli* spp. Si hay la presencia de esta bacteria, se realizará la concentración mínima inhibitoria de todos estos antibióticos que podrán ser usados para el **tratamiento de infección de vías urinarias**.
2. Los resultados de las pruebas no podrán ser divulgados con el nombre de mi hija/hijo sin mi autorización previa.
3. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto de tesis sin mi consentimiento.
4. En el supuesto de que la autoridad judicial exija la revelación de alguna información, **la laboratorista estará obligada a proporcionar sólo aquella que sea relevante para el asunto en cuestión** manteniendo la confidencialidad de cualquier otra información.
5. La participación de mi representado(a) en este proyecto de tesis es de carácter voluntario, y en caso de no participar en él, esta decisión no afectará la relación médico-paciente.

FIRMA DEL REPRESENTANTE: _____


CI: _____

FIRMA DEL INVESTIGADOR: _____

CI: _____

ANEXO 3

FECHA:

 <p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA AREA DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO REGISTRO DE DATOS DEL USUARIO</p>						
Nro	Nombres y Apellidos	Edad	C.I. Nro.	Teléfono	Sexo	Observaciones:



ANEXO 4

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE ORINA

Una muestra limpia es un método de recolectar una muestra de orina para su análisis. Este método se usa para evitar que los gérmenes del pene o la vagina ingresen a una muestra de orina.

Forma en que se realiza el examen

- Recolectar la muestra en un frasco estéril para recoger la muestra de orina.
- Debe realizarse un previo aseo de la región genital con jabón, enjuagar muy bien con agua y no secar.
- Descarte la primera parte de la orina y recolecte el resto sin que el recipiente tenga contacto con el cuerpo, si es mujer separe los labios de la vulva o si es hombre exponga el glande adecuadamente, retirando hacia atrás el prepucio, para evitar el contacto de la muestra con la piel.
- No debe tener relaciones sexuales 24 horas antes de la toma de la muestra.
- Si es mujer y tiene la menstruación esperar 5 días mínimo para realizarse el examen, a no ser que la determinación exija que sea urgente, en tal caso debe realizarse el aseo previo y tratar de evitar la contaminación de la orina a nivel vaginal.
- En caso de que le sea imposible tomar la primera muestra del día, lo puede hacer con mínimo 3 horas de retención en las condiciones antes mencionadas.
- Para el Urocultivo, es de vital importancia que antes de la toma de la muestra, el paciente no haya iniciado tratamiento antibiótico, ya que esto dificultaría el crecimiento bacteriano.
- De ser posible, recolecte la muestra cuando la orina haya estado en su vejiga durante 2 a 3 horas.
- Lávese las manos con jabón y agua caliente.

NIÑAS Y MUJERES

Las niñas y las mujeres necesitan lavarse el área entre los "labios" de la vagina. A usted le pueden entregar un equipo especial para la muestra limpia que contiene toallitas estériles.

- Siéntese en el inodoro con las piernas separadas. Use dos dedos para separar y abrir los labios.

- Use la primera toallita para limpiar los pliegues internos de los labios. Limpie de adelante hacia atrás.
- Use una segunda toallita para limpiar por encima de la abertura por donde sale la orina (uretra), justo sobre la abertura de la vagina.

Para recolectar la muestra de orina:

- Manteniendo los labios separados y abiertos, orine una cantidad pequeña en la taza del inodoro y luego detenga el flujo de orina.
- Sostenga el recipiente de la orina a unas cuantas pulgadas de la uretra y orine hasta que el recipiente esté medio lleno.
- Usted puede terminar de orinar en la taza del inodoro.

NIÑOS Y HOMBRES

Limpie la cabeza del pene con una toallita estéril. Si no está circuncidado, necesitará retraer primero el prepucio.

- Orine una cantidad pequeña en la taza del inodoro y luego detenga el flujo de orina.
- Después, recolecte una muestra de orina dentro del recipiente limpio o estéril, hasta que esté medio lleno.
- Puede terminar de orinar en la taza del inodoro.

BEBÉS

Para la toma de muestra de bebes, la muestra debe ser recolectada en una bolsa plástica con una tira adhesiva en un extremo, hecha para encajar sobre el área genital de su bebé.

Si la recolección de orina se está tomando de un bebé, puede necesitar bolsas recolectoras adicionales.

Lave bien el área con agua y jabón y séquela. Abra y ponga la bolsa sobre su bebé.

- Para los niños, se puede colocar todo el pene dentro de la bolsa.
- Para las niñas, ponga la bolsa sobre los labios.

Puede poner un pañal sobre la bolsa.

Revise con frecuencia al bebé y retire la bolsa después de que la orina se acumule. Los bebés activos pueden desplazar la bolsa, de manera que posiblemente se necesite hacer más de un

intento. Vierta la orina en el recipiente que le entregaron y devuélvasela al médico de acuerdo con las instrucciones.

DESPUÉS DE RECOLECTAR LA MUESTRA

Atornille la tapa herméticamente en el recipiente y no toque el interior de éste ni la tapa.

- Devuélvale la muestra al médico.
- Si usted está en casa, coloque el recipiente en una bolsa plástica y ponga la bolsa en el refrigerador hasta que la lleve al laboratorio o al consultorio del médico. (Espinoza, 2011)

Fuente: Manual de Protocolos y Procedimientos Generales de Enfermería



ANEXO 5

Base de Agar de Sangre (Infusión Agar) M073

Base de Agar de Sangre se recomienda como una base a la que se puede añadir de sangre para uso en el aislamiento y cultivo de microorganismos patógenos exigentes como *Neisseria*, *Streptococci* etc.

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
Peptona de corazón de res	10.000
triptosa	10.000
El cloruro de sodio	5,000
Agar	15.000
El pH final (a 25 ° C)	7,3 ± 0,2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento

Direcciones

Suspender 40 gramos en 1000 ml de agua destilada. Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente. Esterilizar en autoclave a

Presión de 15 libras (121 ° C) durante 15 minutos. Enfriar a 50 ° C y añadir asépticamente 5% v / v de sangre desfibrinada estéril. Mezclar bien y verter en placas de Petri estériles.

Principio e Interpretación

Base de Agar de Sangre es un medio altamente nutritivo utilizado generalmente como un medio basal para la preparación de agar sangre por la suplementación con la sangre. También se puede utilizar como medios de propósito general sin la adición de sangre.

Base de Agar de Sangre medios de comunicación pueden ser utilizados con fosfato de fenoltaleína añadido para la detección de la producción de fosfato.

Los estafilococos, con sal y agar añadido para la evaluación de la contaminación de la superficie en el equipo y cerdo de carcasa y para determinar gama salinidad del Flavobacterias marino. También se puede utilizar para la preparación de antígenos de *Salmonella typhi*.

Base de Agar de Sangre es recomendada por APHA y métodos estándar para la prueba de muestras de alimentos.

Extracto de carne de triptosa proporciona carbono, nitrógeno, aminoácidos y vitaminas. Cloruro de sodio ayuda en el mantenimiento de la el equilibrio osmótico del medio. La adición de la sangre hace que el medio más nutritivo, proporcione un crecimiento adicional para factores requeridos por organismos fastidiosos.

También ayuda en la visualización de las reacciones hemolíticas. Sin embargo, las reacciones hemolíticas dependerán de la sangre animal utilizado. Sangre de oveja da mejores resultados para estreptococos del grupo A. Pero la sangre de oveja no apoya al crecimiento de *Haemophilus haemolyticus* ya que la sangre es deficiente en ovejas nucleótidos de piridina. Sin embargo cuando la sangre de caballo es de colonias *haemolyticus* H. usados producen hemólisis e imitan *Streptococcus pyogenes*.

Control de calidad

Aparición

Crema a amarillo polvo fluido homogéneo

Gelificante

Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar

El color y la claridad del medio preparado

Medio basal: Luz ámbar de color transparente a ligeramente opalescente gel. Después de la adición de 5 % v / v de sangre desfibrinada estéril:

Rojo cereza de color forma un gel opaco en placas de Petri.

Reacción

La reacción de 4,0 % w / v solución acuosa a 25 ° C . pH: 7,3 ± 0,2

pH: 7,10-7,50

Respuesta Cultural

Las características culturales observados con adición de 5 % w / v de sangre estéril desfibrinada, después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-48 hora.

Respuesta Cultural

Organismo	Inóculo (cfu)	Crecimiento w / o sangre	Recuperación w / o sangre	Crecimiento con sangre	Recuperación con sangre	Hemólisis
Respuesta Cultural						
Neisseria meningitidis ATCC 13090	50 - 100	equitativo	40 – 50 %	exuberante	> = 70 %	nada
Staphylococcus aureus ATCC 25923	50 - 100	util	50 – 70 %	exuberante	> = 70 %	beta
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	50 - 100	util	50 – 70 %	exuberante	> = 70 %	nada
Streptococcus pneumoniae ATCC 6303	50 - 100	Equitativo - util	40 – 50 %	exuberante	> = 70 %	alpha
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	50 - 100	Equitativo - util	40 – 50 %	exuberante	> = 70 %	beta

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8 °C. Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA, 2011).

Fuente: Laboratorios HIMEDIA inserto Blood Agar Base



ANEXO 6

Agar de MacConkey M081B

Agar de MacConkey se recomienda para el aislamiento selectivo de *Escherichia coli* de los productos farmacéuticos y está de acuerdo con una metodología armonizada de BP. También se recomienda para el aislamiento selectivo y para la diferenciación de la lactosa fermentada y la lactosa no fermentada de bacterias entéricas.

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
Peptonas (carne y caseína)	3,000
Pancreático compendio de gelatina	17.000
Lactosa mono hidrato	10,000
Sales biliares	1.500
Cloruro de sodio	5,000
Cristal violeta	0.001
Rojo neutro	0,030
Agar	13.500
pH después de la esterilización (a 25 ° C)	7,1 ± 0,2

Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento

Direcciones

Suspender 49.53 gramos de medio deshidratado en 1000 ml / agua destilada purificada. Calentar hasta hervir para disolver el medio por completo. Esterilizar por tratamiento en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos es decir en ciclo validados. Evitar el sobrecalentamiento.

Enfriar a 45-50 ° C. Mezclar bien antes de verter en placas de Petri estériles. La superficie del medio debe estar seca cuando se inocula

Principio e Interpretación

Agar de MacConkey es el medio selectivo y diferencial temprano para el cultivo de organismos coliformes. Posteriormente agar MacConkey y caldo se han recomendado para su uso en análisis microbiológico de los productos alimenticios y para la siembra / inoculación directa de muestras de agua para el recuento de coliformes. Este medio también es aceptado por los métodos estándar para el examen de Leche y Productos Lácteos.

Farmacopea Británica ha recomendado este medio para la subcultura y identificación de *Escherichia coli*. También se cita como medio de agar H. También se recomienda por y de acuerdo con el método armonizado de USP / BP / EP / JP.

Pancreático Recopilación de gelatina y peptonas (carne y caseína) proporcionar los nutrientes esenciales, vitaminas y factores nitrogenados necesarios para el crecimiento de microorganismos. Lactosa monohidrato es la fuente de hidratos de carbono fermentables. La acción selectiva de este medio se atribuye a violeta cristal y sales biliares, que son inhibidoras de la mayoría de especies de bacterias Gram-positivas. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico en el medio.

Después del enriquecimiento de *Escherichia coli* en caldo de MacConkey (M083B), se subcultivan después en agar de MacConkey. Bacterias Gram Negativas suelen crecer bien en el medio y se diferencian por su capacidad de fermentar la lactosa.

La fermentación de la lactosa de cepas crecen como rojo o rosado y pueden estar rodeadas por una zona de ácido precipitó bilis. El color rojo es debido a la producción de ácido a partir de lactosa, la absorción de rojo neutro y un cambio de color posterior del colorante cuando el pH del medio cae por debajo de 6,8. Cepas no fermentan la lactosa, como *Shigella* y *Salmonella* es incolora y transparente y no suelen alterar la apariencia del medio. *Yersinia enterocolitica* puede aparecer como pequeñas colonias de no fermentación de lactosa después de la incubación a una temperatura ambiente.

Control de calidad

Aparición

Amarillo claro a rosa polvo fluido homogéneo

Gelificante

Firme comparable con 1,35% de agar gel.

El color y la claridad del medio preparado

Rojo con tinte violáceo coloreado formas de gel transparente a ligeramente opalescente en placas de Petri.

pH: 6,90-7,30

Respuesta Cultural

Promoción del crecimiento se lleva a cabo de acuerdo con el método armonizado de BP. Se observó una respuesta Cultural después de una incubación a 30-35 ° C durante 18-72 horas. La Tasa de recuperación se considera como 100% para el crecimiento de las bacterias en la recopilación de agar del digesto de soya.

Propiedades estimuladoras del crecimiento

El crecimiento del microorganismo comparable al obtenido previamente con la porción de medio previamente probados y aprobados se produce a la temperatura especificada por no más que el menor período de tiempo especificado inoculando ≤ 100 ufc (a 30-35 ° C durante $\leq 18-72$ horas).

Propiedades Indicativos

Las colonias son comparables en apariencia y reacción indicación a los anteriormente obtenidos con anterioridad probado y aprobado en gran cantidad de medios se produce por la temperatura especificada durante un período de tiempo dentro de la gama de inoculación especificada ≤ 100 ufc (a 30-35 ° C durante 18-72 horas)

ORGANISMO	INÓCULO	CRECIMIENTO	VALOR DE LOTE OBSERVADO (CFU)	RECUPERACIÓN	COLOR DE LA COLONIA	LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	PERIODO DE INCUBACIÓN
Crecimiento Promover + Indicativo							
Escherichia coli ATCC 8739	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	rosa-rojo con precipitado de bilis	30-35 °C	18 – 72 hrs
pruebas adicional microbiológicas							
Escherichia coli ATCC 25922	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	rosa-rojo con precipitado de bilis	30-35 °C	18 – 24 hrs
Escherichia coli NCTC 9002	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	rosa-rojo con precipitado de bilis	30-35 °C	18 – 24 hrs
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	50 - 100	Exuberante	15 – 40	>=50 %	rosa a rojo	30-35 °C	18 – 24 hrs
Enterococcus faecalis ATCC 29212	50 - 100	equitativo buena	25 – 100	30 – 40 %	inoloro a Rosa pálido	30-35 °C	18 – 24 hrs
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	inoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Staphylococcus aureus ATCC 6538	>=10 ³	Inhibido	0	0 %		30-35 °C	24 hrs
Staphylococcus aureus ATCC 25923	>=10 ³	Inhibido	0	0 %		30-35 °C	24 hrs
Salmonella Enteritidis ATCC 13076	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	inoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Salmonella Paratyphi A ATCC 9150	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	inoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Salmonella Paratyphi B ATCC 8759	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	inoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs

Salmonella Typhi ATCC 6539	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	incoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Salmonella Abony NCTC 6017	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	incoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Proteus vulgaris ATCC 13315	50 - 100	Exuberante	25 – 100	>=50 %	incoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Shigella flexneri ATCC 12022	50 - 100	equitativo buena	15 – 40	30 – 40 %	incoloro	30-35 °C	18 – 24 hrs
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	>=10 ³	Inhibido	0	0 %		30-35 °C	24 hrs
Corynebacterium diphtheriae type gravis	>=10 ³	Inhibido	0	0 %		30-35 °C	24 hrs

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8°C.

Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA L. , 2011).

Fuente: Laboratorios HIMEDIA Agar MacConkey



ANEXO 7

PREPARACIÓN DEL CALDO DE MUELLER HINTON

Caldo de Mueller Hinton (Cationes no completos)

Uso previsto

Caldo Mueller Hinton es un medio de propósito general que puede ser utilizado en el cultivo de una amplia variedad de exigentes y no exigentes microorganismos. Este medio no se complementa con iones de calcio o magnesio.

Resumen y explicación

La formulación Mueller Hinton se desarrolló originalmente como una media de agar simple, transparente para el cultivo de patógenos *Neisseria*. Se desarrollaron otros medios de comunicación que sustituyó el uso de Agar de Mueller Hinton para el cultivo de patógenos *Neisseria*, pero se convirtió ampliamente utilizado en la determinación de resistencia a la sulfonamida de gonococos y otros organismos. Ahora se utiliza como un medio de prueba para el examen de susceptibilidad antimicrobiana.

Caldo de Mueller Hinton, de cationes no completos, tiene una fórmula similar a la del medio sólido, pero sin agar, para usar cuando se prefiere el medio fluido. Mientras que puede ser utilizado para el cultivo general de bacterias, por coherencia,

Caldo de Mueller Hinton de cationes completos ahora se recomienda para las pruebas de sensibilidad de todas las especies de bacteria anaeróbico aerobios y facultativos más comúnmente encontrado Bundesliga. El caldo de Mueller Hinton II es catiónico ajustado, las concentraciones de calcio y de magnesio recomienda ion M7.2 en la norma CLSI

Difco™ Mueller Hinton Broth, de cationes no completos, se formula tener un bajo contenido de timina y timidina. Se puede utilizar para la dilución de caldo de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, siempre como las concentraciones de calcio y de ión magnesio se ajustan de acuerdo con M7.2 estándar CLSI

BBL TM caldo Mueller Hinton, de cationes no completos, no ha sido formulado para tener un bajo contenido de timina y timidina. Puede ser utilizado para el cultivo general de bacterias.

Principios del procedimiento

Hidrolizado ácido (digerir) de caseína y de suministro de extracto de carne aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas, minerales, vitaminas, carbono y otros nutrientes para apoyar el crecimiento de microorganismos.

El almidón actúa como un coloide protector contra sustancias tóxicas que pueden estar presentes en el medio. La hidrólisis del almidón durante el tratamiento en autoclave proporciona una pequeña cantidad de dextrosa, la cual es una fuente de energía.

Control de calidad del usuario

NOTA: Las diferencias en las especificaciones de identidad y pruebas de Respuesta Cultural para los medios que se ofrecen como tanto Difco TM y BBL marcas puede reflejar diferencias en la desarrollo y prueba de los medios de comunicación para aplicaciones industriales y clínicos, por las publicaciones referenciadas.

Especificaciones de la identidad

Difco TM Caldo Mueller Hinton

Apariencia Deshidratada: Beige claro, de flujo libre, homogénea con algunas manchas oscuras.

Solución: La solución de 2,1 %, soluble en agua purificada a de ebullición. Solución es de color ámbar muy claro, claro, puede tener un ligero precipitado.

Apariencia Preparado: ámbar muy claro, claro, puede tener un ligero precipitar.

La reacción de 2,1 %

Solución a 25 ° C: pH 7,3 ± 0,1

Calcio: 2.9 - 5.9 mg/L

Magnesio: 3.2 - 5.2 mg / L

Respuesta Cultural

Difco TM Caldo Mueller Hinton

Preparar el medio por instrucciones de la etiqueta, la suplementación con calcio y iones de magnesio según M7.2 norma CLSI Preparar micro dilución en caldo bandejas, inoculan (con los organismos enumerados a continuación) e incubar según lo recomendado por CLSI.2 Compare el MIC (concentración más baja de antimicrobiano que inhibe el crecimiento de la bacteria de prueba) de los antimicrobianos probado a la norma CLSI (BD, 2012).

Fuente: BD inserto Agar Mueller Hinton



ANEXO 8

CEPA CONTROL ATCC 25922

Reconstitucion de la Bacteria

- 1.- Retire el vial sin abrir LYFO DISCO de 2C al almacenamiento 8C y deje que el frasco sin abrir se equilibre a la temperatura ambiente.
- 2.- Eliminar asépticamente una pastilla con pinzas estériles del vial. no retire desecante
- 3.- Colocar el precipitado en 0,5 ml de fluido estéril (agua, solución salina) tapar inmediatamente y el vial recapitulación y devolver el vial resellado a de 2 a 8 de almacenamiento.
- 4.- Aplastar la pildora con la esponja de asterile hasta que la suspensión es homogénea.inmediatamente pesada saturar el mismo hisopo con el material hidratado y traslado al medio de agar.
- 5.- Inocular la placa de cultivo primario rodando suavemente el hisopo más de un - tercio de la placa.
- 6.- Utilizando un asa estéril, rayar para facilitar el aislamiento de colonias
- 7.-Mediante la eliminación adecuada bioazard, deseche el material hidratado restante.
- 8.-Inmediatamente incubar los medios inoculados a temperatura y condiciones adecuadas para el microorganismo (Collection, 2012)

Fuente: Inserto Cepa Control *Escherichia coli* (ATCC 25922)



ANEXO 9

TÉCNICA DE UROCULTIVO



Figura 3. Técnica de Urocultivo

El urocultivo se realiza para diagnosticar bacteriuria, la orina constituye el método excelente para cultivar la mayor parte de microorganismos que infectan el aparato urinario. Cuando se halla una combinación de piuria con bacteriuria sugiere a presencia de una infección urinaria.

SIEMBRA

La técnica para el aislamiento comienza preparando un inóculo de siembra, que consiste en colocar una pequeña cantidad de la muestra en el medio o en los medios de cultivo adecuados, en función de las especies microbianas que se espera encontrar.

Técnica de Kass: Método del asa calibrada

- ✓ Se mezcla la orina sin centrifugar en su propio recipiente.

- ✓ Con un asa de platino calibrada (4 mm de diámetro) Ya con el asa fría se toma una muestra de la orina.
- ✓ Se inocula en los medios seleccionados MACCONKEY Y AGAR SANGRE son el patrón de línea recta y luego zig-zag.

INTERPRETACIÓN

Luego de haber incubado las muestras durante 24 a 48 horas se cuenta el número de colonias desarrolladas y el resultado se multiplica por 100, ya que el asa de platino contiene 0.01 ml de orina.

Se hace el respectivo reporte de resultados informándolos de la siguiente manera:

- ◆ No hubo crecimiento bacteriano
- ◆ Menos de 10 000 colonias por ml
- ◆ Entre 10 000 y 100 000 colonias por ml.
- ◆ Más de 100 000 colonias por ml (Braun, 2011)

Fuente: Recomendaciones para el Diagnóstico Microbiológico de la Infección Urinaria



ANEXO 10

PROTOCOLO

PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM



Figura 4: Técnica de Tinción de Gram

➤ Preparación del frotis

- Se tomará una colonia de un cultivo de 24 horas y se la extenderá en un porta objetos.
- Se fija la muestra pasándola tres o cuatros veces a través de la llama de un mechero Bunsen de manera que el material no se lave durante la tinción y se tiñe. (Koneman, 2008)

➤ Tinción

1. Colocar el frotis en un soporte para tinción y recubra la superficie con solución de violeta de genciana
2. Luego de un minuto lave exhaustivamente con agua destilada o buffer.
3. Cubra el frotis con lugol durante un minuto. Nuevamente lave con agua destilada.
4. Colocar alcohol cetona por 10 segundos o hasta que la decoloración sea evidente. Enjuagar suavemente con agua destilada.
5. Cubrir el frotis con safranina diluida 1:10 por 30 segundos.

6. Enjuagar suavemente con agua destilada
7. Colocar el frotis en posición vertical, para permitir que el exceso de agua drene y el frotis se seque.

Posteriormente se observará al microscopio con el objetivo de 100x (de inmersión), utilizando aceite de inmersión. Las bacterias Gram-positivas se tiñen de azul oscuro. (Koneman, 2008)

Fuente: Koneman Diagnóstico Microbiológico



ANEXO 11

Agar de Citrato Simmons M099

Agar de Citrato Simmons se recomienda para la diferenciación de los miembros de enterobacterias sobre la base de citrato utilización.

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
El sulfato de magnesio	0,200
Fosfato monoamónico	1,000
Fosfato dipotásico	1,000
El citrato de sodio	2,000
El cloruro de sodio	5,000
El azul de bromotimol	0.080
Agar 15.000	
El pH final (a 25 ° C)	6,8 ± 0,2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento.

Direcciones

Suspender 24,28 gramos en 1000 ml de agua destilada. El calor, a ebullición, para disolver el medio completamente. Mezclar bien y distribuir en tubos o frascos. Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos.

Precaución: antes de usar el agua, asegúrese de pH del agua es 6,5 a 7.0. El color inicial del medio puede desviarse de color esperado, si se tiene en cuenta la precaución arriba.

Principio e Interpretación

Estos medios se utilizan para la diferenciación entre Enterobacterias y los miembros del grupo sobre la base aerogenes de la utilización de citrato como única fuente de carbono.

Inicialmente el medio de citrato fue desarrollado por Koser que contiene sal de amonio como la única fuente de nitrógeno y citrato como única fuente de carbono para la diferenciación de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* mediante pruebas IMViC.

Más tarde Simmons modifico formulación Kosers mediante la adición de agar y bromo azul de timol (3). Se recomienda por APHA.

Dihidrógeno fosfato de amonio y citrato de sodio sirven como única fuente de carbono y nitrógeno respectivamente.

Los microorganismos también utilizan sales de amonio inorgánicas como su única fuente de nitrógeno. Metabolismo de estas sales hace el medio para convertirlas en alcalina, indicando un cambio de color del indicador de pH de verde a azul.

Bromotimol Azul es el indicador de pH. El medio debe estar recién preparado porque en condiciones secas, cambios en el color pueden aparecer incluso antes de la inoculación, especialmente en la parte inferior de la inclinación.

Control de calidad

Aparición

Crema a amarillo polvo fluido homogéneo

Gelificante

Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar

El color y la claridad del medio preparado

Verde bosque de colores, forma un gel ligeramente opalescente en tubos como sesgos

Reacción

La reacción de 2,43% w / v solución acuosa a 25 ° C. pH: 6,8 ± 0,2

pH

6,60-7,00

Respuesta Cultural

M099: características culturales observados después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-24 horas.

Organismo	Inóculo (cfu)	Crecimiento	Citrato utilización
Respuesta Cultural			
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	50-100	Buena exuberante	Reacción positivo, color azul

Escherichia coli ATCC 25922	$\geq 10^3$	inhibido	
Salmonella Choleraesuis ATCC 12011	50-100	buena exuberante	Reacción positivo, color azul
Salmonella Enteritidis ATCC 13076	50-100	buena exuberante	Reacción positivo, color azul
Salmonella Typhi ATCC 6539	50-100	Equitativa - buena	Reacción negativo, color verde
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	50-100	Buena exuberante	Reacción positivo, color azul
Shigella dysenteriae ATCC 13313	$\geq 10^3$	inhibido	

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8 °C. Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA L. , 2011)

Fuente: Laboratorios HIMEDIA Agar Citrato



ANEXO 12

SIM Motilidad Medio, Modificado.

Medio SIM, se recomienda para la determinación de la producción de sulfuro de hidrógeno, formación de indol y motilidad de los bacilos entéricos de acuerdo con BAM FDA.

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
Pancreático digestión de la caseína	20.000
Péptica compendio de tejido animal	6.100
Sulfato de amonio ferroso	0,200
El tiosulfato de sodio	0,200
Agar	3.500
El pH final (a 25 ° C)	7,3 ± 0,2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento.

Direcciones

Suspender 30,0 gramos en 1000 ml de agua destilada. Calentar hasta hervir para disolver el medio completamente. Dispense en tubos. Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos. Permita que los tubos se enfríen en posición vertical.

Principio e Interpretación

Medio SIM se recomienda por la FDA BAM, 1.998 para diferenciar bacilos entéricos particularmente *Salmonella* y *Shigella* sobre la base de la producción de sulfuro, formación de indol y la motilidad Jordania y Victorson reportaron que la *Salmonella* Paratyphi A y Paratyphi B se pueden distinguir sobre la base de la producción de H₂S usando acetato de plomo. Sulkin y Willett utilizaron triple azúcar hierro agar con 1% de agar para la motilidad, junto con la producción de H₂S y la fermentación de carbohidratos. Sosa (5) se describe un medio de peptona con baja agar para la motilidad y la determinación de indol.

Motilidad, indol y de producción de sulfuro de pruebas se utilizan para diferenciar los miembros de Enterobacterias. Medio SIM combina estas tres características diferenciales en un solo medio. Hierro peptonizado y tiosulfato de sodio son los indicadores de producción de H₂S. Este H₂S

reacciona con el hierro peptonizado para formar un precipitado negro de sulfuro de hierro. *Salmonella* son H₂S positivo y *Shigella* son negativos H₂S. Organismos móviles intensifican la reacción H₂S. Organismos móviles crecen lejos de la línea de la inoculación con un crecimiento difuso mientras que los organismos no móviles crecen a lo largo del stabline. Motilidad de detección es posible debido a la naturaleza semisólida de la media. *Salmonella* es móvil, mientras que *Shigella* son no móviles. El triptófano, desde péptica resumen de tejido animal, es degradado por bacterias específicas para producir indol. El indol se detecta mediante la adición de reactivos químicos que siguen al período de incubación.

Inocular cultivo fresco con una solo pinchazo, utilizando aguja recta por el centro del medio. Después de la incubación, se observa la motilidad (crecimiento difuso hacia fuera desde el stabline o turbidez en todo el medio) y para la producción de H₂S (ennegrecimiento del medio). Para detectar la producción de indol, se añade tres o cuatro gotas de reactivo de Kovacs y se observa para el desarrollo del color rojo (reacción positiva). Se Determina la motilidad y la producción de H₂S antes de la determinación de la producción de indol.

Aparición

Crema a beige polvo fluido homogéneo

Gelificante

Semisólida, comparable con 0,3% de agar gel.

El color y la claridad del medio preparado

Ámbar mediano de color forma un gel ligeramente opalescente en tubos como colillas

Reacción

La reacción de 3,0% w / v solución acuosa a 25 ° C. pH: 7,3 ± 0,2

pH: 7,10-7,50

Respuesta Cultural

Características culturales observadas después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-24 horas.

Respuesta Cultural

ORGANISMO	INÓCULO (CFU)	CRECIMIENTO	MOTILIDAD	INDOL PRODUCCIÓN (EN ADICIÓN DE KOVAC)	H2S
Respuesta Cultural Escherichia coli ATCC 25922	50-100	exuberante	positivo, el crecimiento desde la línea del pinchazo causando turbiedad	reacción positiva, anillo rojo en la interfaz del medio	Reacción negativa
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	50-100	exuberante	positivo, el crecimiento desde la línea del pinchazo causando turbiedad	Reacción negativa	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Shigella flexneri ATCC 12022	50-100	exuberante	negativo, el crecimiento a lo largo de la línea del pinchazo y su alrededor sigue siendo clara	Reacción negativa	Reacción negativa
Salmonella Paratyphi A ATCC 9150	50-100	exuberante	positivo, el crecimiento desde la línea del pinchazo causando turbiedad	Reacción negativa	Reacción negativa
Salmonella Paratyphi B ATCC 8739	50-100	exuberante	positivo, el crecimiento desde la línea del pinchazo causando turbiedad	Reacción negativa	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	50-100	exuberante	negativo, el crecimiento a lo largo de la línea del pinchazo y su alrededor sigue siendo clara	Reacción negativa	Reacción negativa

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2-8 ° C.

Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA L. , SIM Agar , 2011)

Fuente: Laboratorios HIMEDIA - Medio SIM



ANEXO 13

Agar de lisina de hierro M377

Agar de lisina de hierro se recomienda para la diferenciación de organismos entéricos especialmente *Salmonella arizonae* basado en su capacidad de descarboxilar o deaminar lisina y para formar sulfuro de hidrógeno (H₂S).

Composición

Ingredientes	Gms / Litro
Péptica compendio de tejido animal	5.000
Extracto de levadura	3,000
Dextrosa	1.000
L-lisina	10.000
Citrato de amonio férrico	0,500
Tiosulfato de sodio	0,040
Púrpura de bromocresol	0.020
Agar	15.000
PH final (a 25 ° C)	6.7 ± 0.2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento

Direcciones

Suspender 34,56 gramos en 1000 ml de agua destilada. Calentar hasta hervir para disolver el medio completamente. Dispense en tubos y esterilice por tratamiento en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos. Enfriar los tubos en posición inclinada para formar tubos inclinados con colillas profunda.

Principio e Interpretación

Agar de lisina de hierro fue desarrollado por Edwards y Fife para detectar la fermentación de la lactosa *Salmonellae*. *Salmonellae* es conocida para descarboxilar la lisina rápidamente y producir grandes cantidades de sulfuro de hidrógeno. Este medio es un medio sensible para la detección de fermentación de la lactosa y las especies de *Salmonella* que no fermentan la lactosa.

Muchas cepas de este grupo fermentan la lactosa muy rápidamente por lo tanto suprimen la producción de H₂S en triple azúcar hierro Agar (M021). Así que hay una posibilidad de que los organismos frecuentes en brotes de intoxicación alimentaria pueden ser pasados por alto. Thatcher y Clark describen el aislamiento de especies de Salmonella de los alimentos de agar selectivo y para inocular en Agar de lisina de hierro y Triple Azúcar Hierro (M021) juntos. Usando estos dos medios de comunicación con mayor discriminación se puede hacer entre organismos coliformes por ejemplo, *Escherichia* y *Shigella*.

Péptica compendio de tejido animal y extracto de levadura proporcionan nutrientes esenciales. La dextrosa es una fuente de hidratos de carbono fermentables.

Citrato de amonio férrico y tiosulfato de sodio son indicadores de la formación de H₂S. Los cultivos que producen sulfuro de hidrógeno ocasionan oscurecimiento del medio debido a la producción de sulfuro ferroso. Descarboxilación de lisina causa una reacción alcalina (de color púrpura) para dar el cadaverina amina y los organismos que eliminan una carboxílico de lisina que produce un tope ácido (color amarillo).

Los organismos que desaminan lisina, forma ácido alfa - cetocarboxílico, que reacciona con sal de hierro cerca de la superficie del medio de bajo la influencia del oxígeno para formar el compuesto de color marrón rojizo. El medio es apuñalado hasta la base de la culata y el veteado de inclinación.

Control de calidad

Aparición

Amarillo claro a grisáceo polvo suelto homogénea amarilla

Gelificante

Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar

El color y la claridad del medio preparado

De color púrpura, claras a forma un gel ligeramente opalescente en tubos como sesgos

Reacción

La reacción de 3,45% w / v solución acuosa a 25 ° C. pH: 6,7 ± 0,2

pH

6,50-6,90

Respuesta Cultural

M377: características culturales observados después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-24 horas.

ORGANISMO	INÓCULO (CFU)	CRECIMIENTO	EXTREMO	INCLINACIÓN	H2S
Citrobacter freundii ATCC 8090	50-100	exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción positiva, ennegrecimiento o de medio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50-100	exuberante	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	50-100	exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	color rojo oscuro, desaminación de lisina	reacción positiva, ennegrecimiento o de medio
<i>Salmonella Arizonae</i> ATCC 13314	50-100	exuberante	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción positiva, ennegrecimiento o de medio
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	50-100	exuberante	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción positiva, ennegrecimiento o de medio
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	50-100	exuberante	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	reacción positiva, ennegrecimiento o de medio
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	50-100	exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	reacción alcalina, púrpura o sin ningún cambio de color	

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8 °C. Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA, 2011)

Fuente: Laboratorios HIMEDIA – Medio LIA



ANEXO 14

Base de Agar de Urea

Base de Agar de Urea con la adición de urea se recomienda para la detección de producción de ureasa, en particular por los miembros del género *Proteus*

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
Péptica compendio de tejido animal	1.000
Dextrosa	1.000
Cloruro de sodio	5,000
Fosfato disódico	1,200
Fosfato monopotásico	0,800
Rojo fenol	0,012
Agar	15.000
El pH final (a 25 ° C)	6,8 ± 0,2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento

Direcciones

Suspender 24.01 gramos en 950 ml de agua destilada. Calentar hasta hervir para disolver el medio completamente. Esterilizar por tratamiento en autoclave a 10 libras de presión (115 ° C) durante 20 minutos. Enfriar a 50 ° C y añadir asépticamente 50 ml de estéril 40% solución de urea (FD048) y mezclar bien. Distribuir en tubos estériles y permitir fijar en la posición inclinada. No sobrecalentar o recalentar el medio como la urea ya que se descompone con mucha facilidad.

Principio e Interpretación

Agar de Urea se utiliza para detectar la producción de ureasa. Agar de Urea descrito por Christense detecta actividad de la ureasa por todos los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positiva y también por otros miembros de Enterobacterias que exhiben una ureasa retardada de reacción. Esto se logró mediante:

- a) la adición de glucosa al medio
- b) disminuyendo la concentración de peptona y
- c) la disminución de la sistema de tamponamiento, como un medio menos tamponada detecta incluso más pequeña cantidad de álcali.

Péptica recopilación de tejidos animales es la fuente de nutrientes esenciales. La dextrosa es la fuente de energía. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio, mientras que los fosfatos sirven para amortiguar el medio. La urea se hidroliza para liberar amoníaco.

Indicador rojo de fenol detecta la alcalinidad generada por el cambio de color visible desde el naranja al rosa.

Incubación prolongada puede causar una reacción alcalina en el medio. Un medio sin urea sirve como control negativo para descartar resultados falsos positivos. Además, todos los medios de ensayo urea se basan en la formación de alcalinidad y por lo que no son específicos para la determinación de la tasa absoluta de la actividad ureasa. La utilización de proteínas puede elevar el pH a la alcalinidad debido a la hidrólisis de proteínas y el exceso de amino ácidos resultados de liberación en reacción de falsos positivos

Control de calidad

Aparición

Amarillo claro al polvo homogéneo de color rosa claro de flujo libre

Gelificante

Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar

El color y la claridad del medio preparado

Naranja amarillento color formas de gel transparente a ligeramente opalescente en tubos como sesgos

Reacción

La reacción de 2,4% w / v solución acuosa a 25 ° C. pH: $6,8 \pm 0,2$

pH: 6,60-7,00

Respuesta Cultural

M112: características culturales observados en la adición de estéril 40% Urea Solution (FD048) después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-24 horas

Organismo	Inóculo (CFU)	Crecimiento	Ureasa
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	50 - 100	exuberante	reacción negativa, ningún cambio
Escherichia coli ATCC 25922	50 - 100	exuberante	reacción negativa, ningún cambio
Klebsiella pneumonia ATCC 13883	50 - 100	exuberante	reacción positiva, color cereza
Proteus mirabilis ATCC 25933	50 - 100	exuberante	reacción positiva, color cereza
Proteus vulgaris ATCC 13315	50 - 100	exuberante	reacción positiva, color cereza
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	50 - 100	exuberante	reacción negativa, ningún cambio

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8°C.
Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA, 2011)

Fuente: Laboratorios HIMEDIA – Medio Urea



ANEXO 15

Agar de Hierro de Triple Azúcar

Agar de hierro de triple azúcar se utiliza para la identificación de bacilos entéricos Gram-negativo sobre la base de fermentación de dextrosa, lactosa y sacarosa y la producción de sulfuro de hidrógeno.

Composición **

Ingredientes	Gms / Litro
Peptona	20.000
Extracto de carne	3.000
Lactosa	10,000
La sacarosa	10.000
Dextrosa	1.000
El cloruro de sodio	5,000
Sulfato ferroso, heptahidrato	0.200
Tiosulfato de sodio, pentahidratado	0.300
Rojo de fenol	0,024
Agar	12.000
El pH final (a 25 ° C)	7,4 ± 0,2

** Fórmula ajustado, estandarizado para adaptarse a los parámetros de rendimiento

Direcciones

Suspender 64.32 gramos (el peso equivalente de medios deshidratados por litro) en 1.000 ml de agua destilada. Calentar hasta hervir para disolver el medio completamente. Mezclar bien y distribuir en tubos de ensayo. Esterilizar por tratamiento en autoclave a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Dejar que el medio para establecer en forma inclinada con la culata de aproximadamente 1 pulgada de largo.

Principio e Interpretación

Agar de hierro de triple azúcar fue propuesto originalmente por Sulkin y Willett y modificado por Hajna para la identificación de enterobacterias. Este medio cumple con las recomendaciones de la APHA, para el examen de la carne y los productos alimenticios, para el examen de la leche

y los productos lácteos y para la prueba de límite microbiano para confirmar la presencia de Salmonella y en la identificación de bacilos gram-negativo

Comité ISO y BIS ha recomendado una ligera modificación para la identificación de Salmonella. BPI ha recomendado el medio (M021S) para la detección de Escherichia coli y Vibrio.

Peptona, extracto de levadura y extracto de carne proporciona compuestos nitrogenados, azufre, oligoelementos y vitaminas del complejo B, etc.

El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico. Lactosa, sacarosa y la glucosa son los hidratos de carbono fermentables. Sodio iones tiosulfato y férricos o ferrosos hacen del sistema indicador de H₂S. Rojo fenol es el indicador de pH. Los organismos que fermentan la glucosa producen una variedad de ácidos, convirtiendo el color del medio de rojo a amarillo. Más cantidad de ácidos se liberan en el trasero (fermentación) que en la inclinación (respiración). Bacterias que crecen también forman productos alcalinos del oxidativo descarboxilación de peptona y estos productos alcalinos neutralizan las grandes cantidades de ácido presente en el trasero. Por lo tanto, la aparición de un alcalino (rojo) de inclinación y un ácido (amarillo) a tope después de la incubación indica que el organismo es una glucosa fermentador pero es incapaz de fermentar la lactosa y / o sacarosa. Las bacterias que fermentan la lactosa o sacarosa (o ambos), además de glucosa, producen grandes cantidades de ácido. Por lo tanto no reversión de pH en esa región es posible y por lo tanto las bacterias presentan una inclinación ácido y las nalgas ácido. La producción de gas (CO₂) se detecta por la presencia de grietas o burbujas en el medio, cuando el acumulado escapes de gas. Tiosulfato se reduce a sulfuro de hidrógeno por varias especies de bacterias y H₂S se combina con los iones férricos de sales férricas para producir el precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso. Reducción de tiosulfato procede sólo en un ácido medio ambiente y ennegrecimiento ocurre generalmente en el trasero del tubo. Triple Azúcar Agar Hierro se debe utilizar en paralelo con Urea Agar / Caldo (M112 / M111) para distinguir entre Salmonella y Proteus especie. Las reacciones se pueden resumir como sigue:

Alcalina inclinación / ácido a tope Sólo glucosa fermentada.

Acido inclinación / ácido a tope glucosa y sacarosa fermentadas o glucosa y la lactosa fermentadas o los tres azúcares, glucosa, lactosa y sacarosa fermentado.

Burbujas o grietas presente- La producción de gas

Negro presente- precipitado H₂S producción de gas

Algunos miembros de las enterobacterias y algunas productoras de H₂S *Salmonella* pueden no ser H₂S positivo sobre TSI Agar.

Algunas bacterias pueden mostrar producción de H₂S en Kligler Hierro Agar pero no en TSI Agar. Esto puede ocurrir debido a la utilización de los sacarosa en TSI Agar suprime la vía enzimática que da lugar a la producción de H₂S

Control de calidad

Aparición

Amarillo claro a rosa polvo suelto homogénea de color

Gelificante

Firme, comparable con el 1,2% en gel de agar.

El color y la claridad del medio preparado

Formas de color rojo rosado claro a ligeramente opalescente gel en tubos como sesgos

Reacción

La reacción de 6,43% w / v solución acuosa a 25°C. pH: 7,4 ± 0,2.

Respuesta Cultural

M021S: características culturales observados después de una incubación a 35 - 37 ° C durante 18-24 horas.

Organismo	Inóculo (CFU)	Crecimiento	Inclinación	Extremo	Gas	H ₂ S
Respuesta Cultural Citrobacter freundii ATCC 8090	50 - 100	Exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción positiva	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	50 - 100	Exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción positiva	reacción negativa, no ennegrecimiento de medio
Escherichia coli ATCC	50 - 100	Exuberante	reacción	reacción	Reacción	reacción

25922			ácida, color amarillento en el medio	ácida, color amarillento en el medio	positiva	negativa, no ennegrecimiento de medio
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	50 - 100	Exuberante	reacción ácida, color amarillento en el medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción positiva	reacción negativa, no ennegrecimiento de medio
Proteus vulgaris ATCC 13315	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción negativa	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Salmonella paratyphi A ATCC 9150	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción positiva	reacción negativa, no ennegrecimiento de medio
Salmonella Typhi ATCC 6539	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción negativa	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción positiva	reacción positiva, ennegrecimiento de medio
Shigella flexneri ATCC 12022	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción negativa	reacción negativa, no ennegrecimiento de medio
Vibrio cholerae ATCC 15748	50 - 100	Exuberante	reacción alcalina, color rojo del medio	reacción ácida, color amarillento en el medio	Reacción negativa	reacción negativa, no ennegrecimiento de medio

Almacenamiento y caducidad

Almacenar por debajo de 30 ° C en un recipiente bien cerrado y en el medio preparado a 2 - 8 ° C. Usar antes de la fecha de caducidad en la etiqueta (HIMEDIA, TSI 2011)

Fuente: Laboratorios HIMEDIA – Agar TSI



ANEXO 16

OXISTRIPS™ TIRAS DE OXIDASA Y OXISTICKS™ COTONETES DE OXIDASA

Tiras de diagnóstico Hardy OxiStrips™ oxidasa y OxiSticks™ oxidasa Los hisopos se utilizan para la detección de la actividad de la citocromo de oxidasa en bacterias

RESUMEN

Citocromo contiene Organismos que producen una enzima intracelular oxidasa. Esta enzima oxidasa cataliza la oxidación de citocromo c. Los organismos que contienen citocromo c como parte de su cadena respiratoria son oxidasa-positivo y gire el reactivo azul / morado. Organismos que carecen de citocromo c como parte de su cadena respiratoria no se oxidan el reactivo, dejando incoloro dentro de los límites de la prueba, y son oxidasa negativo.

Tiras OxiStrips™ oxidasa están listos para usar, son tiras de prueba con un plástico conveniente y una manija para que el usuario puede evitar el contacto de la piel con el área de reacción.

OxiSticks™ oxidasa hisopos son hisopos que contienen reactivos impregnados en la punta del hisopo para facilitar su uso.

FÓRMULA DE REACTIVOS

Tiras OxiStrips™ oxidasa y OxiSticks™ oxidasa Los hisopos se impregnan con N, N, N', N'-tetrametil dihidrocloruro-p-fenilendiamina, en una solución conservante.

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Almacenamiento: Los productos no deben utilizarse si hay signos de deterioro o si la fecha de vencimiento haya expirado. Tienda OxiStrips™ y OxiSticks™ con un desecante en el vial en todo momento.

La fecha de caducidad se aplica al producto en su embalaje intacto cuando se almacena según las indicaciones.

Este producto tiene la siguiente vida útil de la fecha de fabricación:

365 días:	Z93	Tiras OxiStrips™ oxidasa
	Z193	Hisopos OxiSticks™ oxidasa

PRECAUCIONES

Este producto puede contener componentes de origen animal. Certificado de conocimientos sobre el origen y / o el estado sanitario de los animales no garantiza la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por lo tanto, se recomienda que estos productos pueden tratar como potencialmente infecciosos y manipularse siguiendo las precauciones universales de sangre habituales. No ingerir, inhalar, o permitir que entre en contacto con la piel.

Este producto es sólo para uso diagnóstico in vitro y es para ser utilizado sólo por personal de laboratorio adecuadamente formados y cualificados. Observe las precauciones de seguridad y utilizar técnicas asépticas. Todas las muestras de laboratorio deben ser consideradas infecciosas y manejados de acuerdo a las "precauciones estándar". La "Guía para Precauciones de Aislamiento" está disponible en los Centros de Control y Prevención de Enfermedades en www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl_isolation.html.

Para obtener información adicional con respecto a las precauciones específicas para la prevención de la transmisión de todos los agentes infecciosos de instrumentos y materiales de laboratorio, y las recomendaciones para la gestión de la exposición a las enfermedades infecciosas, consulte CLSI documento M-29: Protección de los trabajadores de laboratorios de origen ocupacional Infecciones : Pauta Aprobado.

Esterilizar todos los residuos de riesgo biológico antes de su eliminación.

Consulte el documento "Precauciones durante el uso de medios" en la página web Hardy de diagnóstico Documento Técnico para más información.

Consulte las instrucciones de SDS de la búsqueda en el sitio web Hardy diagnósticos para obtener más información.

PROCEDIMIENTO

Recolección de muestras: Este producto no está destinado para el aislamiento primario de muestras de pacientes. Este producto se usa en conjunción con otras pruebas bioquímicas para identificar cultivos de organismos aislados.

Modo de empleo:

Tiras OxiStrips™ Oxidasa: Coloque la tira de prueba oxidasa en una placa de Petri y humedecer un área de la tira a ensayar con agua. No sature tira. Con cualquiera de un bucle de platino o aplicador de madera, manchar una pasta bacteriana de 3-4 colonias bien aisladas sobre el área humedecida. Use colonias que son de 18-24 horas de vida.

OxiSticks™ oxidasa hisopos: Retire hisopo del contenedor sin tocar la punta. Utilice el hisopo para recoger cuidadosamente 3-4 colonias bien aisladas. No hay necesidad de pre-humedecer el hisopo. Use colonias que son de 18-24 horas de vida.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

La aparición de un color azul / morado dentro de los 30 segundos indica una prueba positiva.

Importante: Cualquier color que aparece después de este tiempo debe ser tomado en cuenta.

LIMITACIONES

La prueba de oxidasa se puede utilizar en la identificación presuntiva de *Neisseria spp.* y en la diferenciación e identificación de bacilos Gram-negativos. Todos los organismos oxidasa-positivos deben ser examinados por tinción de Gram para determinar la morfología celular y la reacción gramo. Se recomienda que las pruebas de espectrometría de bioquímicos, inmunológicos, molecular, o la masa se lleva a cabo en colonias del cultivo puro para la identificación completa.

El uso de hierro nicrom o de otro tipo que contenga dispositivos de inoculación puede causar reacciones de falsos positivos.

Reacciones oxidasa de bacilos Gram-negativas se deben determinar en colonias obtenidas a partir de medios no selectivos y no diferenciales para asegurar resultados válidos.

La mayoría de *Haemophilus spp.* Son oxidasa-positivo. Tiras o reactivos de prueba oxidasa Menos sensibles pueden dar resultados falsos negativos. Consultar referencia que figura para más información.

Débilmente organismos oxidasa-positivos, tales como *Pasteurella multocida*, puede tomar más tiempo para mostrar una reacción positiva en las tiras reactivas.

Se recomienda el uso de colonias que son de 18-24 horas de edad. Colonias mayores pueden producir reacciones débiles.

La prueba de oxidasa se debe realizar en los aislamientos en o por encima de 15-30 ° C.

Cualquier desarrollo del color que aparece después de 30 segundos de la inoculación debe ser tomada en cuenta.

Consulte la sección "Limitaciones de los procedimientos y de garantía" de documentos en el sitio web Hardy de diagnóstico Documento Técnico para más información.

MATERIALES NECESARIOS NO INCLUIDOS

Suministros microbiológicos estándar y equipos tales como bucles, pipetas, incubadoras, y los incineradores, etc., así como reactivos bioquímicos y serológicos, no se proporcionan.

CONTROL DE CALIDAD

Los siguientes organismos son habitualmente utilizados para la prueba de diagnóstico de Hardy.

Microorganismos

Reacción

Pseudomonas aeruginosa

ATCC ® 27853

Oxidasa-positivo; de color azul /

morado se desarrolla dentro de 10-20 segundo

Escherichia coli

ATCC ® 25922

Oxidase-negative; no color develops

USUARIO CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda que cada nuevo lote o envío de reactivo de la prueba con controles positivos y negativos conocidos. (3,8)

APARIENCIA FÍSICA

Tiras OxiStrips™ oxidasa son las tiras de prueba de reactivos con un mango de plástico, y de color blanco. OxiSticks™ hisopos de oxidasa son hisopos de polipropileno con puntas de dacrón que son de color blanco.

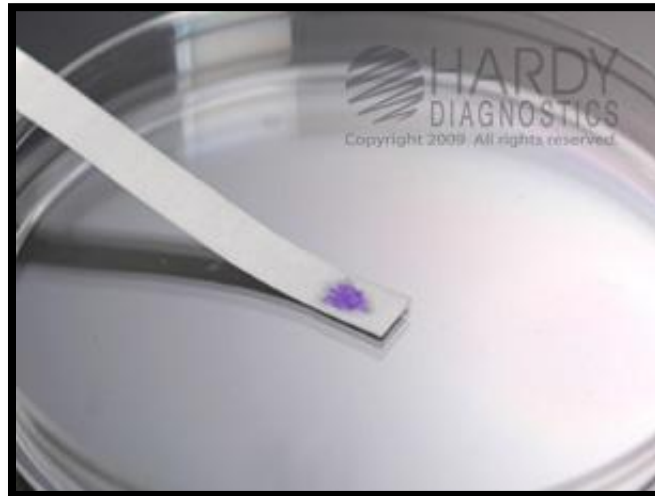


Figura 5. - Tirilla reactiva oxidasa positiva

Pseudomonas aeruginosa (ATCC® 27853) aplicada a un OxiStrip™ (Cat. N. Z93). El desarrollo de un color azul / morado dentro de 10-20 segundos era indicativo de una reacción positiva a la oxidasa.

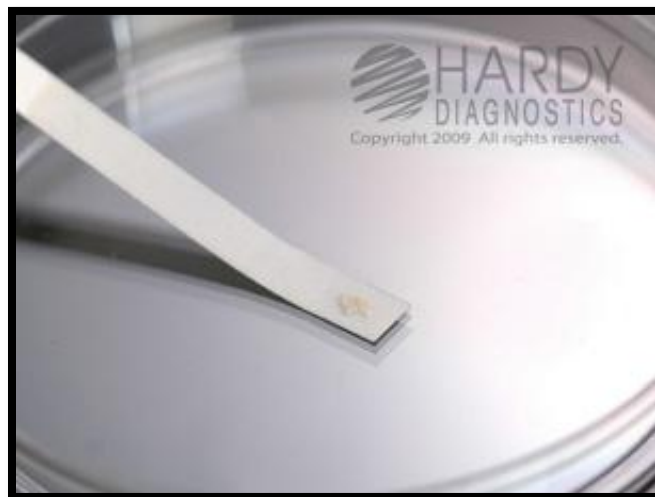


Figura 6. – Tirilla reactiva oxidasa negativa

Escherichia coli (ATCC 25922 ®) aplicado a un OxiStrip™ (Cat. N. Z93). Sin el desarrollo de un color azul / morado dentro de 10-20 segundos era indicativo de una reacción oxidasa negativo.

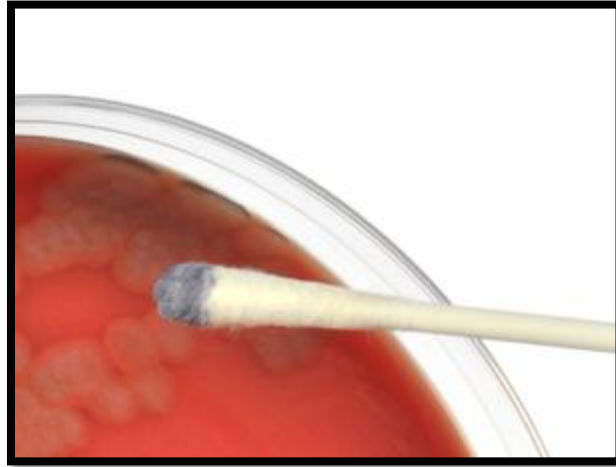


Figura 7. – Oxidasa positiva para *Pseudomona aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (ATCC ® 27853) aplicada a un OxiStick™ (Cat. N. Z193). El desarrollo de un color azul / morado dentro de 10-20 segundos era indicativo de una reacción positiva a la oxidasa (Instructions for Use, 2015).

Fuente: Inserto de Tiras Reactivas Oxidasa.



ANEXO 17

MÉTODO DE MACRODILUCIÓN

Preparación y almacenamiento diluido agente antimicrobiano

1. Utilice 13- tubos de ensayo \times 100 mm estériles para llevar a cabo la prueba. Si los tubos se deben guardar para su uso posterior, asegurarse de que pueden ser congelados
2. Cierre los tubos con las tapas flojas de tornillo, tapones de plástico o de cierre de metal, o tapones de algodón
3. Utilice un tubo de control de crecimiento que contiene caldo sin agente antimicrobiano para cada organismo ensayado.
4. Preparar la doble final (u otros) diluciones de agente antimicrobiano volumétricamente en el caldo.
 - Se necesita un volumen final mínimo de 1 ml de cada dilución para la prueba
 - Utilice una pipeta para la medición de todos los diluyentes y luego por la adición de la solución antimicrobiana de valores para el primer tubo. Para cada etapa de dilución posterior, utilice una nueva pipeta. Porque hay una dilución 1: 2 de las drogas cuando un igual se añade volumen de inóculo, las diluciones antimicrobianos se preparan a menudo al doble de la final deseada la concentración.
5. Utilice los tubos en el día de la preparación o inmediatamente colocarlos en un congelador a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ (de preferencia a $\leq -60^{\circ}\text{C}$) hasta que se necesite. Aunque los agentes antimicrobianos en tubos congelados por lo general permanecen estables durante varios meses, ciertos agentes (por ejemplo, ácido clavulánico y imipenem) son más lábiles que otros y deben almacenarse a $\leq -60^{\circ}\text{C}$. No guarde los tubos en un congelador de descongelación automática. Antimicrobiano descongelada soluciones no deben volver a congelarse; ciclos de congelación-descongelación aceleran la degradación de algunos agentes antimicrobianos, en particular los β -lactámicos.

Preparación del inóculo y la inoculación

1. Preparar un inóculo estandarizado utilizando la suspensión directa de colonias o el método de crecimiento.

2. De manera óptima dentro de los 15 minutos de preparación, diluir la suspensión del inóculo ajustado en caldo así, después de inoculación, cada tubo contiene aproximadamente 5×10^5 CFU/mL. Esto se puede lograr mediante la dilución la suspensión 0,5 McFarland 1: 150, lo que resulta en un tubo que contiene aproximadamente 1×10^6 CFU / mL.

La subsiguiente dilución 1: 2 en el paso 3 trae el inóculo final de 5×10^5 CFU / mL.

3. Dentro de los 15 minutos después de la inoculación se ha estandarizado como se ha descrito anteriormente, añadir 1 ml de la inóculo ajustado a cada tubo que contiene 1 ml de agente antimicrobiano en la serie de dilución (y una tubo de control positivo que contiene sólo el caldo), y mezcla. Esto resulta en una dilución 1: 2 de cada concentración antimicrobiana y una dilución 1:2 del inóculo. Es aconsejable realizar una pureza comprobar de la suspensión del inóculo subcultivando una alícuota sobre una placa de agar no selectivo para incubación simultánea.

Determinación de concentración mínima inhibitoria puntos finales

El MIC es la concentración más baja de agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento del organismo en los tubos o pocillos de macrodilución como detectada por el ojo sin ayuda. Visualización de los dispositivos destinados a facilitar la lectura de las pruebas de microdilución y registro de los resultados se puede utilizar siempre y cuando no es comprometer en la capacidad de discernir el crecimiento en los pocillos.

1. Comparar la cantidad de crecimiento en los pocillos o tubos que contienen el agente antimicrobiano con el cantidad de crecimiento en los pocillos de control del crecimiento o tubos (sin agente antimicrobiano) que se utiliza en cada conjunto de pruebas cuando la determinación de los puntos finales de crecimiento. Para que una prueba se considere válida, el crecimiento

aceptable (≥ 2 botón mm o turbidez definido) deberán presentarse en el control del crecimiento también.

2. Con trimetoprima y las sulfonamidas, los antagonistas en el medio puede permitir un ligero crecimiento; Por lo tanto, leer el punto final a la concentración en la que no es $\geq 80\%$ de reducción en el crecimiento como en comparación con el control.

3. Cuando un solo saltó así ocurre en una prueba de microdilución, lea el más alto MIC. No informe de resultados para los medicamentos para los que existe más de un omite así.

4. En general, los PRM microdilución para bacilos Gram-negativos son los mismos o una dilución doble inferior que los países de renta media macrodilución comparables (Malbran, 2001).

Fuente: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS Para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos



ANEXO 18
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
REGISTRO INTERNO DE RESULTADOS

FECHA: 30 de Marzo al 30 Mayo

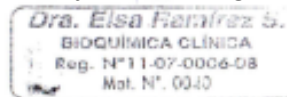
CODIGO	MEDIOS DE CRECIMIENTO		PRUEBAS BIOQUIMICAS												MICROORGANISMO AISLADO
	AGAR MACCONKEY	AGAR SANGRE	GRAM	OXI	CITRATO	SIM			UREA	LISINA	TSI				
						MOT	INDOL	SH2			GAS	SH2	INCL	PROF	
P1	x	X	BG -	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P2	X	X	BG-	-	+	+	+	+	+		+	+	K	A	<i>Proteus spp</i>
P3	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P4	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P5	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P6	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E.coli</i>
P7	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+		+	+	K	A	<i>Proteus spp.</i>
P8	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P9	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P10	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P11	X	X	BG-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	K	A	<i>Klebsiella spp.</i>
P12	X	X	BG -	-	+	-	-	-	-	-	+	-	K	A	<i>E. coli</i>
P13	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P14	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P15	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P16	X	X	BG-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	K	A	<i>Klebsiella spp.</i>
P17	X	X	BG-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	A	A	<i>Proteus spp.</i>
P18	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P19	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>

P20	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P21	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+		+	-	K	A	<i>Proteus mirabilis</i>
P22	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P23	X	X	BG-	-	+	-	-	-	-		+	-	A	A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P24	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P25	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P26	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P27	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P28	X	X	BG-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	K	A	<i>Klebsiella pneumonia</i>
P29	X	X	BG-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	K	A	<i>Proteus mirabilis</i>
P30	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P31	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P32	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P33	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P34	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P35	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P36	X	X	BG-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	K	A	<i>Klebsiella spp.</i>
P37	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	K	A	<i>Proteus spp.</i>
P38	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P39	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P40	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	K	A	<i>Proteus spp.</i>
P41	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P42	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P43	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P44	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	K	A	<i>Proteus spp.</i>
P45	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	K	A	<i>Proteus spp.</i>
P46	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P47	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P48	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P49	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P50	X	X	BG-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	K	A	<i>Proteus spp</i>
P51	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P52	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>

P53	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P54	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P55	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P56	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P57	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P58	X	X	BG-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	K	A	<i>Klebsiella spp.</i>
P59	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P60	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P61	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P62	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>
P63	X	X	BG-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	A	A	<i>E. coli</i>



FIRMA DEL JEFE DEL LABORATORIO





ANEXO 19

FECHA: 30 MARZO – 30 MAYO

RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA OBTENIDOS POR EL MÉTODO DE MACRODILUCIÓN FRENTE A														
<i>Escherichia coli</i>														
	TC-	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	TC+
	ug/ml	64 ug/ml	32 ug/ml	16 ug/ml	8 ug/ml	4 ug/ml	2 ug/ml	1 ug/ml	0,5 ug/ml	0,25 ug/ml	0,125 ug/ml	0,0625 ug/ml	0,03125 ug/ml	ug/ml
PACIENTE 1														
M#	R1								X					
	R2								X					
	R3								X					
PACIENTE 3														
M#	R1						X							
	R2						X							
	R3						X							
PACIENTE 4														
M#	R1						X							
	R2						X							
	R3						X							
PACIENTE 5														
M#	R1							X						
	R2							X						
	R3							X						
PACIENTE 6														
M#	R1							X						
	R2							X						
	R3							X						
PACIENTE 8														
M#	R1						X							
	R2						X							
	R3						X							

PACIENTE 9													
M#	R1							X					
	R2							X					
	R3							X					
PACIENTE 10													
M#	R1							X					
	R2							X					
	R3							X					
PACIENTE 11													
M#	R1								X				
	R2								X				
	R3								X				
PACIENTE 13													
M#	R1									X			
	R2								X				
	R3								X				
PACIENTE 14													
M#	R1									X			
	R2								X				
	R3								X				
PACIENTE 15													
M#	R1											X	
	R2											X	
	R3											X	
PACIENTE 18													
M#	R1										X		
	R2										X		
	R3										X		
PACIENTE 19													
M#	R1									X			
	R2								X				
	R3								X				
PACIENTE 20													
M#	R1									X			
	R2								X				

	R3								X					
PACIENTE 22														
M#	R1											X		
	R2											X		
	R3											X		
PACIENTE 24														
M#	R1								X					
	R2								X					
	R3								X					
PACIENTE 25														
M#	R1						X							
	R2						X							
	R3						X							
PACIENTE 26														
M#	R1								X					
	R2								X					
	R3								X					
PACIENTE 27														
M#	R1											X		
	R2											X		
	R3											X		
PACIENTE 28														
M#	R1											X		
	R2											X		
	R3											X		
PACIENTE 31														
M#	R1											X		
	R2											X		
	R3											X		
PACIENTE 32														
M#	R1						X							
	R2						X							
	R3						X							
PACIENTE 33														
M#	R1											X		

	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 34														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 35														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 38														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 39														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 41														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 42														
M#	R1									X				
	R2									X				
	R3									X				
PACIENTE 43														
M#	R1												X	
	R2												X	
	R3												X	
PACIENTE 46														
M#	R1											X		
	R2											X		
	R3											X		
PACIENTE 47														

M#	R1									X									
	R2									X									
	R3									X									
PACIENTE 48																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PACIENTE 49																			
M#	R1					X													
	R2					X													
	R3					X													
PACIENTE 50																			
M#	R1									X									
	R2									X									
	R3									X									
PACIENTE 52																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PACIENTE 53																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PACIENTE 54																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PCIENTE 55																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PACIENTE 56																			
M#	R1																		X
	R2																		X
	R3																		X
PACIENTE 57																			
M#	R1									X									
	R2									X									



ANEXO 20

El Ecuador ha sido, es y será
"País Amazónico"



Loja, 05 de Noviembre de 2015

HOSPITAL BASICO No. 7 "LOJA"

Dra. Elsa Ramírez S.
JEFE DEL LABORATORIO CLINICO DEL HB-7 BI "LOJA"

CERTIFICA:

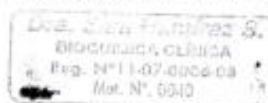
Que la Sra. Liliana del Cisne Jima Solano proceso 146 muestras microbiológicas en el Laboratorio Clínico del "Hospital Militar Brigada Nro 7 Loja" desde el 30 marzo hasta el 29 mayo del 2015, como parte del trabajo de titulación denominado: "CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFOTAXIMA FRENTE A *Escherichia coli* spp. AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA NRO 7 LOJA".

Es importante mencionar que las actividades se cumplieron satisfactoriamente, con puntualidad y dedicación.

Para la constancia del presente;

Dra. Elsa Ramírez S. Mg. Sc.

JEFE DEL LABORATORIO CLINICO DEL HB-7 BI "Loja"





ANEXO 21

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

FECHA:

MICROBIOLOGÍA:

NOMBRE:.....

MUESTRA: Urocultivo

GERMEN IDENTIFICADO:

- Escherichia Coli

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA:

- La CIM de cefotaxima frente a E. coli:.....


SENSIBLE

RESISTENTE

INTERMEDIO

LABORATORISTA ENCARGADO.....

ANEXO 22

CONCLUSIONES	RECOMENDACIONES	
<p>◆ El desarrollo de métodos estandarizados de susceptibilidad antimicrobiana, a pesar de las dificultades que presentan, constituyen un notable avance en la terapia de infecciones bacterianas, sobre todo las que comprometen la vida del paciente. Actualmente se cuenta con puntos de corte para varios antimicrobianos de uso clínico y para bacterias frecuentemente aisladas de infecciones de vías urinarias.</p> <p>◆ Con la información obtenida de los métodos estandarizados se ha podido detectar cepas intrínsecamente resistentes a los antimicrobianos y cepas con CIMs más elevadas que lo habitual, asociado a falla terapéutica</p>	<p>3. Destacar la prevención y tratamiento adecuado en las infecciones principalmente la de vías urinarias, que este inmerso en el uso de los antibióticos, con charlas educativas dirigidos por profesionales de la salud debidamente aptos y capacitados, y de esta manera evitarla automedicación</p> <p>4. Actualizar con mayor frecuencia nuevas investigaciones con la finalidad de conocer nuevos datos estadísticos acerca de la resistencia y/o sensibilidad bacteriana a los antibióticos para que tomen en cuenta al momento de prescribir fármacos</p>	 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA</p> <p>AREA DE LA SALUD HUMANA</p> <p>CARRERA DE LABORATORIO CLINICO</p> <p>TEMA:</p> <p>CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE AMPICILINA, AMIKACINA, CEFTRIAZONE, CEFUROXIMA, CEFOTAXIMA, GENTAMICINA Y CIPROFLOXACINA FRENTE A ESCHERICHIA COLI AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA NRO. 7 LOJA</p> <p>LOJA- ECUADOR</p> <p>2015</p>

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de ampicilina, amikacina, ceftriaxone, cefuroxima, cefotaxima, gentamicina y ciprofloxacina frente a *Escherichia coli* en pacientes de consulta externa con solicitud de urocultivo del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja.

Objetivos específicos:

- Realizar urocultivo a partir de muestras de orina de pacientes que acuden a consulta externa que tengan petición de urocultivo en el Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de ampicilina, amikacina, ceftriaxone, cefuroxima, cefotaxima, gentamicina y ciprofloxacina en urocultivos de *Escherichia colisp* en muestras de orina de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja mediante la técnica de macrodilución.
- Difundir los resultados al personal médico del Hospital Militar Brigada Nro. 7 de la ciudad de Loja.

DEFINICIONES

INFECCION DE VIAS URINARIAS: Se considera como infección del trato urinario a la presencia de microorganismo patógeno que puedan estar presentes con o sin síntomas, de ahí que las de origen bacteriano son las más frecuentes.

ESCHERICHIA COLI: La *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo, bacteria común que se encuentra en los intestinos de los animales y las personas y es la causa más frecuente de infección de vías urinarias y contribuye casi al 90% de las infecciones urinarias en mujeres jóvenes.

UROCULTIVO: Es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática en pacientes con riesgo de infección.

CIM: es la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo después de un tiempo de incubación que generalmente es de 24 horas.

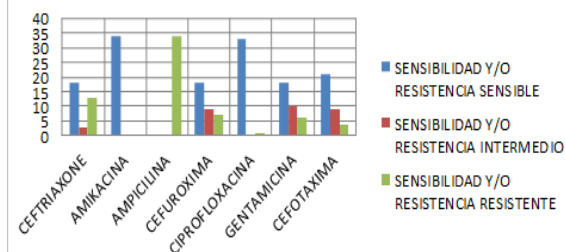
RESISTENCIA BACTERIANA: el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos.

RESULTADOS

Sensibilidad y/o resistencia de ceftriaxone, amikacina, ampicilina, cefuroxima, ciproloxacina, gentamicina y cefotaxima frente a *Escherichia coli* en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja

ANTIBIOTICO	SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA			FRECUENCIA	PORCENTAJE
	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE		
CEFTRIAXONE	18	3	13	34	100%
AMIKACINA	34			34	100%
AMPICILINA			34	34	100%
CEFUROXIMA	18	9	7	34	100%
CIPROFLOXACINA	33		1	34	100%
GENTAMICINA	18	10	6	34	100%
CEFOTAXIMA	36	7	4	47	100%

SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA DE CEFTRIAXONE, AMIKACINA, AMPICILINA, CEFUROXIMA, CIPROFLOXACINA, GENTAMICINA Y CEFOTAXIMA FRENTE A *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA N° 7 LOJA



ANEXO 23

FOTOGRAFÍAS DE LOS PROCEDIMIENTOS REALIZADOS



Figura N°8. Técnica de urocultivo



Figura N°9. Incubación de la muestra



Figura N°10. Revisión de cultivos



Figura N°11. Técnica de Tinción de Gram y Lectura de placas



Figura N°12. Siembra en pruebas bioquímicas



Figura N° 13. Lectura de Pruebas Bioquímicas

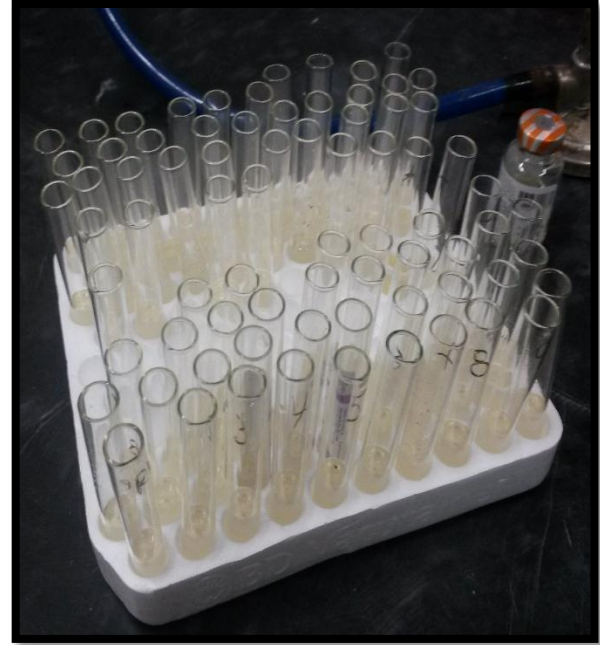


Figura N°14. Técnica de Macro dilución para la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefotaxima



Figura N° 15. Socialización de Resultados

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
1. TÍTULO.....	1
2. RESUMEN.....	2
3. SUMMARY.....	3
4. INTRODUCCIÓN.....	4
5. REVISIÓN LITERARIA.....	7
5.1. INFECCIÓN DE LAS VIAS URINARIAS.....	7
5.2. ETIOLOGÍA.....	7
5.3. ENTEROBACTERIAS.....	7
5.4. <i>Escherichia coli</i>	9
5.4.1. Clasificación.....	10
5.4.2. Características morfológicas y tintoriales.....	10
5.4.3. Características nutricionales.....	11
5.4.4. Características coloniales.....	11
5.4.5. Características de crecimiento.....	11
5.5. PATOLOGÍA.....	11
5.6. DIAGNOSTICO DE INFECCIÓN DE TRACTO URINARIO.....	12
5.6.1. Medios de Cultivo.....	13
5.6.2. Pruebas Bioquímicas.....	13
5.6.3. Concentración Mínima Inhibitoria.....	15
5.6.3.1. Métodos laboratoriales para medir la resistencia bacteriana.....	16
5.6.3.1.1. Dilución en caldo.....	16
5.6.3.1.2. Difusión en agar.....	17
5.6.3.1.3. Método e-test.....	17
5.6.3.1.4. Métodos automatizados.....	18
5.7. TRATAMIENTO.....	18

5.7.1. Tipos de Antibióticos utilizados para Infección de Tracto Urinario.....	19
5.7.2. Cefalosporinas.....	20
6. MATERIALES Y METODOS.....	21
6.1. TIPO DE ESTUDIO.....	21
6.2. ÁREA DE ESTUDIO.....	21
6.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	21
6.3.1. Universo.....	21
6.3.2. Muestra.....	21
6.4. CRITERIOS.....	21
6.4.1. Criterios de Inclusión.....	21
6.4.2. Criterio De Exclusión.....	21
6.5. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS.....	22
6.5.1. Fase Pre – Analítica.....	22
6.5.2. Fase Analítica.....	22
6.5.3. Fase Post – Analítica.....	23
7. RESULTADOS.....	24
8. DISCUSIÓN.....	28
9. CONCLUSIONES.....	31
10. RECOMENDACIONES.....	32
11. BIBLIOGRAFÍA.....	33
12. ANEXOS.....	39
ÍNDICE GENERAL.....	104
ÍNDICE DE CUADROS.....	106
ÍNDICE DE FIGURAS.....	107
ÍNDICE DE ANEXOS.....	108

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág.
1.	Microorganismos identificados en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja. 2015	24
2.	Concentración mínima inhibitoria de cefotaxima frente a cepas de <i>Escherichia coli</i>	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Contenido	Pág.
1.	Microorganismos identificados en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada N° 7 Loja. 2015	24
2.	Concentración mínima inhibitoria de cefotaxima frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> .	25
3.	Técnica de Urocultivo.	58
4.	Técnica de Tinción de Gram.	60
5.	Tirilla reactiva oxidasa positiva.	82
6.	Tirilla reactiva oxidasa negativa.	82
7.	Oxidasa positiva para <i>Pseudomona aeuroginosa</i> .	83
8.	Urocultivo.	100
9.	Incubación de muestras.	100
10.	Revisión de cultivos.	101
11.	Técnica de Tinción de Gram y Lectura.	101
12.	Siembra en Pruebas Bioquímicas.	102
13.	Lectura de Pruebas Bioquímicas.	102
14.	Técnica de Macrodilución para la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefotaxima.	103
15.	Difusión de Resultados.	103

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Oficio aprobado por el Director del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja.....	39
Anexo 2: Consentimiento Informado.....	40
Anexo 3: Registro Interno de Datos del Paciente	42
Anexo 4: Técnica de Recolección de Orina	43
Anexo 5: Protocolo para preparación de Agar Sangre	46
Anexo 6: Protocolo para preparación de Agar MacConkey	49
Anexo 7: Protocolo para preparación de Caldo Mueller Hinton	54
Anexo 8: Cepa Control ATCC 25922	57
Anexo 9: Técnica de Urocultivo	58
Anexo 10: Protocolo para la realización de la Tinción de Gram	60
Anexo 11: Protocolo para preparación de Agar Citrato	62
Anexo 12: Protocolo para preparación de medio SIM	65
Anexo 13: Protocolo para preparación de Agar Lisina	68
Anexo 14: Protocolo para preparación Base Agar Urea	71
Anexo 15: Protocolo para preparación de Agar de Hierro de Triple Azúcar	74
Anexo 16: Protocolo de Tirillas reactivas de Oxidasa	78
Anexo 17: Técnica de Macrodilución	84
Anexo 18: Registro interno de resultados de urocultivos y pruebas bioquímicas	87
Anexo 19: Registro interno de resultados de Concentración mínima inhibitoria	90
Anexo 20: Certificado de cumplimiento de haber realizado el muestreo	96
Anexo 21: Hoja de resultados de Concentración mínima inhibitoria	97
Anexo 22: Tríptico de Concentración mínima inhibitoria	98
Anexo 23: Fotos	100