



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A *Escherichia coli. spp*
AISLADA DE UROCULTIVOS EN PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL
MILITAR BRIGADA Nro.7 DE LA CIUDAD DE LOJA”

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO
CLÍNICO

AUTORA

Daniela Alejandra Flores Pasaca

DIRECTORA

Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc

LOJA – ECUADOR

2016

CERTIFICACIÓN

Doctora

Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICO:

Que el trabajo de investigación titulado “Concentración Mínima Inhibitoria de Cefuroxima frente a *Escherichia coli. spp* aislada de urocultivos en pacientes de consulta externa del Hospital Militar Brigada Nro.7 de la ciudad de Loja” elaborado por la Srta. Daniela Alejandra Flores Pasaca egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico, ha sido desarrollado, corregido y orientado bajo mi estricta dirección y una vez que se enmarca dentro de las exigencias del reglamento de régimen académico de la Universidad Nacional de Loja, autorizo su presentación, disertación y defensa.

Loja, Enero de 2016



.....
Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Daniela Alejandra Flores Pasaca declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresadamente 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 del mismo.

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: Daniela Alejandra Flores Pasaca

Firma:



Cédula: 110516491-5

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR, PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, **Daniela Alejandra Flores Pasaca** declaro ser autora de la Tesis titulada:

“CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A *Escherichia coli. spp* AISLADA DE UROCULTIVOS EN PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAAR BRIGADA Nro.7 DE LA CIUDAD DE LOJA”, como requisito para optar al grado 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 21 días del mes de Enero de 2016, firma el autor

FIRMA:

AUTORA: Daniela Alejandra Flores Pasaca

CÉDULA: 110516491-5

DIRECCIÓN: Santa Teresita: Abraham Lincon y Thomàs R. Torres

CORREO ELECTRÓNICO: dani_aleflores@outlook.es

TELÉFONO: 07-2-546-745

CELULAR: 0993240175

DATOS COMPLEMENTARIOS:

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón, Mg. Sc.

TRIBUNAL DE GRADO:

Presidenta: Dra. Mariela Alexandra Idrovo Vallejo, Mg. Sc.

Vocal: Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

AGRADECIMIENTO

Me permito expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, especialmente al Área de la Salud Humana, a los docentes de la carrera por brindarme una excelente formación profesional y humana, por darme la oportunidad de superarme y lograr cumplir una meta muy especial en mi vida como es la obtener de la licenciatura.

Un agradecimiento especial a la Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón Mg. Sc, directora de tesis, por brindarme su total apoyo, orientación y enseñanzas.

Al Dr. Luis Morocho porque sin él, este proyecto investigativo no hubiera sido posible, por su apoyo, comprensión y sobre todo por su paciencia en el transcurso de mi tesis final.

Al Centro de Investigaciones de la UNL, a todo el personal que apoyó mi trabajo de una forma desinteresada, por las facilidades brindadas para la recopilación de la información y por su continua colaboración en el presente trabajo investigativo.

La Autora

DEDICATORIA

Con mucho amor y cariño dedico el presente trabajo:

A mis padres Dr. Efraín Flores y Dra. Luz Angélica Pasaca, que me dieron el regalo más grande de la vida, por brindarme todos sus consejos, valores para hacerme una mujer de bien y por luchar cada día para darme lo mejor y sobre todo por ser mi mano derecha en cada uno de mis pasos.

A mi hija Danna Camila por su paciencia, porque a pesar de todo siempre me muestra una sonrisa y por estar conmigo en esta lucha tan dura por salir adelante. Te amo hija.

A mis hermanos Cristian, Alex y María José que con sus consejos y buenos ejemplos me han transmitido esa fuerza y esas ganas de luchar por lo que quiero. Los Amo.

A mis amigos y demás familiares que indirectamente han formado parte de mi vida y me han ayudado en muchas ocasiones, consejos y por estar conmigo en los mejores y peores momentos.

1. TÍTULO

**“CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A
Escherichia Coli.spp AISLADA DE UROCULTIVOS EN PACIENTES DE CONSULTA
EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 DE LA CIUDAD DE LOJA”**

2. RESUMEN

En nuestro país las Infecciones de Vías Urinarias (IVU) representan el motivo principal de infecciones en pacientes ambulatorios y a nivel intrahospitalario. En la actualidad con el uso indiscriminado de antibióticos y posologías incompletas tratamientos tradicionales han visto disminuida su eficacia terapéutica. Cefuroxima antibiótico usado en el tratamiento de IVU, es una cefalosporina de segunda generación que ofrece gran cobertura frente a microorganismos Gram negativos como *Escherichia coli* (*E.coli*). El presente estudio es de tipo descriptivo de corte transversal. Se analizaron por triplicado 146 urocultivos de pacientes de consulta externa, de los cuales 87 resultaron negativos y 59 positivos obteniendo como gérmenes identificados los siguientes: *E.coli.spp* (76%), *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Proteus vulgaris* (8%), *Proteus mirabilis* (5%). La técnica de macrodilución ayuda a determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la cual resulta muy efectiva al momento de estudiar la sensibilidad de cefuroxima frente a *E.coli.spp* patógeno más frecuente en IVU. Posterior a la identificación de las 45 cepas *E.coli* se determinó la CMI por macrodilución obteniendo los siguientes resultados: Sensibles (51%), Resistentes (29%) e Intermedio (20%), según los puntos de corte del Manual del CLSI M100-S25 del año 2015, la cepa control *E.coli* ATCC 25922 fue ensayada durante todo el proceso analítico. Finalmente se realizó la socialización de resultados al personal de salud del HB-7 Loja.

PALABRAS CLAVE: *Escherichia coli*, Concentración Mínima Inhibitoria, Cefuroxima.

SUMMARY

In our country Urinary Tract Infections (UTI) are the main source of infections in outpatient and inpatient level. Today with the indiscriminate use of antibiotics and incomplete dosages traditional treatments have been diminished therapeutic efficacy. Cefuroxime antibiotic used in the treatment of UTI is a second-generation cephalosporin that offers a hedge against Gram negative microorganisms such as *Escherichia coli* (*E. coli*). This study is descriptive type of cross section. It was analyzed 146 urine cultures triplicate outpatients, of whom 87 were negative and 59 positive obtaining as germs identified the following: *E.coli.spp* (76%), *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Proteus vulgaris* (8%), *Proteus mirabilis* (5%). Macrodilution technique helps determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), which is very effective when studying the sensitivity of cefuroxime against *E.coli.spp* most common pathogen in IVU. After the identification of the 45 *E.coli* strains MIC macrodilution determined by the following results: Sensitive (51%), Resistant (29%) and Intermediate (20%), according to cut offs of CLSI M100 Manual -S25 2015, the control strain *E. coli* ATCC 25922 was tested throughout the analytical process. Finally the socialization of health personnel results HB-7 Loja was made.

KEYWORDS: *Escherichia coli*, *Minimum Inhibitory Concentration*, *Cefuroxime*.

3. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de vías urinarias (IVU) son una de las enfermedades infecciosas más frecuentes en la atención primaria en salud y también en el medio intrahospitalario, se pueden presentar a cualquier edad pero son las personas de sexo femenino en las que se presenta con mayor frecuencia, debido a la anatomía del aparato urinario femenino. En Ecuador representa la tercera causa de morbilidad, además es causa del 30% de consultas ambulatorias. La relación de consultas anuales Hombres/Mujeres es: 14/60 con un total de 8 millones/consultas/año (Tumbaco, A., Martínez, L. 2013).

En Ecuador las IVU ocupan el 10mo lugar de la tasa de mortalidad general x 10.000 habitantes y son la segunda causa de mortalidad por enfermedades infecciosas (INEC. 2011.)

Estudios realizados en el Hospital General Isidro Ayora indican que desde el mes de Mayo a Diciembre de 2014, el número de cepas aisladas de *E. coli* de usuarios que acuden de consulta externa fueron de 167 cepas considerándolo patógeno principal de IVU; de las cuales 26 se han reportado con producción de Betalactamasas de Espectro Extendido(BLEE) cepas que son resistentes a cefalosporinas de 3ra generación, monobactámicos y ácido clavulánico , confirmando así el incremento de la resistencia de bacterias *E.coli* (Hospital Isidro Ayora, 2014).

Dentro de la etiología de la IVU tenemos: bacterias, hongos; entre otros. La IVU de origen bacteriano es la más frecuente con un porcentaje de 95% y único en la mayoría de los casos la *Escherichia coli* (*E.coli*) en ambos sexos (Miranda, T.2013).

La resistencia bacteriana a múltiples fármacos constituye un serio problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos. Es llamativa la marcada resistencia que ha desarrollado *E.coli*. a muchos de los antibióticos

más usados, se pudiera decir que el comportamiento de *E.coli* ante este grupo de antibióticos es debido, entre otras causas a que es el germen históricamente más frecuente, al uso y abuso de antibióticos por parte del personal de salud y también y en mayor proporción debido a la automedicación (Brito, M. , Álvarez, D., Mena, R. 2010).

A pesar de que Cefuroxima, cefalosporina de segunda generación, tiene una gran actividad bactericida para gram negativos, la emergencia de gérmenes resistentes productores de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) como *E.coli* ha aumentado. Motivo por el cual se utilizan antibióticos cada vez más fuertes y de mayor coste como los carbapenems. En la actualidad, muchas especies bacterianas presentan fenotipos de multi-resistencia, para estas bacterias pocos antimicrobianos persisten activos incluyendo cefalosporinas, por esta manera, es crítico contar con una información continuamente actualizada respecto de la susceptibilidad *in vitro* que exhiben las cepas bacterianas de *Escherichia coli*.

La técnica de dilución en caldo es considerada prueba gold estándar en el estudio de sensibilidad antimicrobiana, evaluando así la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de diversos antibióticos como Cefuroxima frente a determinado agente patógeno. Diversos estudios demuestran su importancia terapéutica, lo que ayuda a una dosificación más eficaz, además de que con la evaluación de los valores de CMI en una determinada especie bacteriana como *E.coli* es de interés epidemiológico (OMS. 2010).

En la actualidad, el personal del laboratorio de microbiología enfrenta diariamente la tarea de detectar en forma eficiente una gran variedad de microorganismos que presentan resistencia a los agentes antimicrobianos. La macrodilución y microdilución en caldo es considerado el mejor método de evaluación de sensibilidad de los antibióticos ya que aporta información eficaz sobre la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) así como de su resistencia. Para determinar la CIM de un antibiótico frente a una bacteria por técnica de

dilución, se prepara una serie de tubos con una cantidad determinada de caldo de cultivo, una cantidad de antibiótico decreciente y finalmente una medida bacteriana obtenida mediante la escala de Mc Farland.

El presente estudio fue de tipo descriptivo de corte transversal. Para dar cumplimiento al primer objetivo, se realizó por triplicado el análisis de 146 urocultivos de los cuales de los cuales 87 resultaron negativos a las 48 horas de incubación y 59 positivos en donde se pudieron identificar los siguientes microorganismos: *E.coli.spp* (76%), *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Proteus vulgaris*(8%) y *Proteus mirabilis*(5%) , posterior a su identificación se realizó la técnica de macrodilución por triplicado dando cumplimiento al segundo objetivo que fue identificar la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefuroxima frente a *E.coli spp* obteniendo los siguientes resultados: Sensibles(51%), Resistentes (29%) e Intermedio (20%), según los puntos de corte del Manual del CLSI M100-S25 del año 2015. La cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922 fue ensayada durante todo el proceso analítico. Finalmente para cumplir el tercer objetivo los resultados fueron difundidos al personal de salud mediante charlas en el salón de exposiciones del Hospital Militar B-7 de la ciudad de Loja además se realizó la entrega de trípticos con información referente al estudio.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS

Las infecciones urinarias son una respuesta inflamatoria del tracto urinario a una invasión bacteriana que se suele asociar con bacteriuria y piuria. Las infecciones del tracto urinario están causadas en su mayoría por bacterias de la flora intestinal que ascendiendo por la uretra, alcanzan la vejiga urinaria y en algunos casos progresan afectando a los uréteres y los riñones (Prats, G. 2006).

4.1.1 FACTORES DE RIESGO

La uretra femenina es más propensa a la colonización dada a su proximidad al ano, su corta longitud (unos 4 cm) y su desembocadura bajo los labios. El coito propicia la introducción de bacterias en la vejiga y se asocia de manera temporal al inicio de cistitis. Asimismo, el uso de dispositivos intrauterinos o tapón cervico-uterino o de preservativos recubiertos de espermicidas modifica en grado considerable la microflora bacteriana normal del introito vaginal y se ha asociado a un aumento de la colonización por *E coli* y el riesgo de cistitis y pielonefritis agudas. Otro factor de riesgo es el embarazo debido al decremento del tono uretral, menor peristaltismo uretral e insuficiencia temporal de las válvulas vesico-uretrales, también puede existir infección con la obstrucción del flujo de la orina ocasionada por tumores, cálculos etc., disfunción vesical, reflujo vesical, factores genéticos, deficiencia en el aseo genital, infecciones recidivantes, la edad en donde se desarrolla con mayor frecuencia es entre 1-50 años (Bautista, M. 2011).

Entre el 75 y 90% de los episodios de cistitis en jóvenes sexualmente activas se atribuyen a las relaciones sexuales, observándose correlación entre la frecuencia de infección y la frecuencia del coito. La infección urinaria no complicada es poco frecuente en mujeres sexualmente inactivas. Entre otros factores de riesgo tenemos empleo de píldoras anticonceptivas o preservativos, la micción poscoital, o el uso del baño en vez de la ducha. En

mujeres posmenopáusicas los factores de riesgo de infección urinaria no complicada son diferentes. Según estudios prospectivos la actividad sexual no se asocia a infección recurrente. El factor de riesgo más intenso y constante en las mujeres posmenopáusicas son los antecedentes de infección urinaria en la juventud. Otros factores que pueden contribuir son la diabetes y la condición de no secretoras. La incontinencia crónica se asocia claramente a la infección urinaria en mujeres posmenopáusicas. Sin embargo la incontinencia sugiere la presencia de alteraciones funcionales en cuyo caso deberían considerarse infecciones urinarias complicadas (Jawetz,. Melnick,. & Adelberg. 2011).

4.1.2 PATOLOGÍA

Las infecciones urinarias son resultado de las interacciones entre el patógeno urinario y el huésped, depende en parte de los factores de virulencia de las bacterias, el tamaño del inoculo y mecanismos de defensa del huésped inadecuados. Estos factores también cumplen una función en la determinación del nivel definitivo de localización y la generación de lesión de las vías urinarias. Si bien el aumento de la virulencia bacteriana parece ser motivo necesario para superar la fuerte resistencia del huésped, las bacterias con mínima virulencia son capaces de infectar a los pacientes con compromiso grave de la inmunidad (Ilijama, R. 2014).

A menudo las infecciones se definen en forma clínica en función de su probable sitio de origen:

- **Bacteriuria:** Es la presencia de bacterias en la orina que en condiciones normales no se encuentran allí. Su hallazgo se considera un indicador válido de colonización o infección bacteriana de las vías urinarias. La bacteriuria puede ser sintomática o asintomática. La piuria es decir la presencia de leucocitos en la orina suele indicar infección y respuesta inflamatoria del urotelio a la presencia de una bacteria. La presencia de bacteriuria sin piuria suele indicar colonización bacteriana sin infección

de las vías urinarias. La presencia de piuria sin bacteriuria justifica la búsqueda de tuberculosis, litiasis o cáncer.

- Cistitis: Es un síndrome clínico compuesto por disuria, polaquiuria, tenesmo vesical y en ocasiones dolor supra púbico. Aunque estos síntomas indican una cistitis bacteriana, se pueden asociar con infección de la uretra o la vagina o con enfermedades no invasoras como cistitis intersticial, carcinoma de vejiga o litiasis. En cambio los pacientes pueden permanecer asintomáticos mientras desarrollan una infección en la vejiga e incluso en las vías urinarias superiores.
- La pielonefritis aguda es un síndrome clínico compuesto por escalofríos, fiebre y dolor lumbar asociado con bacteriuria y piuria y esta combinación es bastante específica para diagnosticar una infección bacteriana del riñón. El término no se debe utilizar en ausencia de dolor lumbar. Pielonefritis crónica describe un riñón cicatrizal con reducción de su tamaño debido a evidencias morfológicas radiológicas o funcionales de enfermedad renal que puede ser post infecciosa pero que muchas veces no se asocia con IVU. La denominación no complicada se aplica a la infección que afecta a un paciente sano con vías urinarias normales desde el punto de vista estructural y funcional. La mayoría de estos pacientes son mujeres con cistitis bacteriana o pielonefritis aguda que se produce por primera vez o es recurrente y los patógenos responsables suelen ser susceptibles y se pueden erradicar con antibióticos poco costosos por vía oral durante un periodo breve (Wein, A., et. al. 2008).

4.2 ENTEROBACTERIAS

Las enterobacteriaceae son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram negativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y los animales. La familia comprende muchos géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, entre otros.) algunos microorganismos entéricos como por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la microflora normal y en forma

incidental producen enfermedades. Las enterobacterias son anaerobios o aerobios facultativos, son el grupo más frecuente de bacilos Gram negativos que se cultivan en el laboratorio clínico, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas. Se multiplican en medios con peptona o extracto de carne sin que se añada cloruro de sodio u otros suplementos, se multiplican bien en agar MacConkey, fermentan en vez de oxidar glucosa, a menudo producen gas, catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen el nitrato a nitrito (Jawetz. , Meldnick. , & Adelberg, 2011).

4.2.1 ESCHERICHIA COLI (E.coli)

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo con una cadena de ADN, aerobio facultativo, con flagelos peritricos, fimbrias, pilis y microcápsula. Presenta fermentación de manitol y gas a partir de glucosa; además es lactosa positiva (Romero, R. 2007).

E.coli es la especie de bacteria recuperada con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que afectan casi a cualquier tejido y sistema orgánico humano. Es uno de los microorganismos más frecuentes involucrados en la sepsis por gramnegativos y en el shock inducido por endotoxinas. Otras infecciones habituales producidas por *E. Coli* son las de las vías urinarias y la de las heridas, la neumonía en los pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y la meningitis en los recién nacidos. *E.coli* se serotipifica sobre la base de sus antígenos de superficie O (somático), H (flagelar) y K (capsular). En la actualidad se reconocen más de 170 serogrupos diferentes de antígenos O. La combinación de antígenos O y H define un “serotipo” de un aislado; por ejemplo, *E.coli* O157:H7 es un serotipo de una cepa virulenta de *E.coli* asociado con colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (Koneman, E., Allen, S. et al. 2006).

E.coli es la bacteria que causa más frecuente IVU y contribuye casi 90% de las primeras infecciones urinarias en mujeres jóvenes. La mayor parte de las infecciones urinarias que afectan a la vejiga o al riñón en un hospedador por lo demás sano son causadas por un

pequeño número de tipos de antígeno o que han elaborado específicamente factores de virulencia que facilitan la colonización y las infecciones clínicas subsiguientes. Tales microorganismos se designan como *E.coli* uropatógena. Por lo general estos microorganismos producen hemolisina que es citotóxica y facilita la invasión de los tejidos. Las cepas que producen pielonefritis expresan el antígeno K y elaboran fimbrias P que se unen al antígeno del grupo sanguíneo P (Rodríguez, G. 2012).

Una cepa de *E. coli* en orina se identifica rápidamente por su morfología de colonias blancas y aspecto cremoso características con lustre iridiscente en medios diferenciadores como agar EMB. En agar MacConkey las colonias son rosas debido a que son fermentadores de lactosa (Jawetz., Meldnick. , & Adelberg. 2011).

E.coli suele producir pruebas con positividad para glucoronidasa B si se utiliza el sustrato 4 metilumbeliferil-B glucorónico (MUG), fermentación de manitol, y produce gas a partir de glucosa. Las cepas de otros lugares anatómicos además de la orina, con propiedades características a menudo se pueden confirmar como *E.coli* con una prueba de MUG positiva (Rodríguez, G. 2012).

Los miembros del género *Escherichia* tienen las siguientes reacciones claves: indol positivo, rojo de metilo positivo, lisina descarboxilasa positivo. Por su reacción en TSI (Triple Sugar Iron) se puede decir que estas bacterias fermentan lactosa, sacarosa (o ambos) y glucosa. Producen grandes cantidades de ácido, por lo tanto, hay reversión de pH en esa región y el medio de cultivo presenta una inclinación ácida y tope ácido (A/A). Algunas otras reacciones de esta bacteria son motilidad positiva, catalasa positiva, oxidasa negativa, voges proskauer negativo y citrato negativo. Son negativos para todas las otras pruebas bioquímicas clave: sulfuro de hidrógeno, fenilalanina desaminasa y urea (Koneman E.; Allen, S. et al. 2006).

4.3 RESISTENCIA BACTERIANA

4.3.1 DEFINICIÓN

La Organización Mundial de la Salud la define como: la oposición de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable. Los organismos resistentes (bacterias, hongos, virus y algunos parásitos) pueden resistir ataques de medicamentos antimicrobianos tales como antibióticos, fungicidas, antivirales y antipalúdicos, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación. La aparición de cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se reproducen de forma errónea o se intercambian características de resistencia, pero la utilización y el uso indebido de antimicrobianos también acelera su aparición. Las prácticas inapropiadas de control de las infecciones, las malas condiciones sanitarias y la manipulación inadecuada de alimentos propician la propagación de las resistencias (OMS. 2015).

La capacidad de las bacterias de eludir la acción antibacteriana es inagotable, al igual que las posibilidades de que surjan mutaciones o nuevos mecanismos de transferencia de resistencia. La industria farmacéutica ha visto casi agotada su capacidad de introducir nuevos fármacos antibacterianos por los altos costos de investigación y la escasa recuperación de la inversión (Casellas, J. 2011).

4.3.2 TIPOS DE RESISTENCIA

La resistencia de las bacterias Gram negativas de importancia clínica a los antibacterianos se presenta fundamentalmente en la familia Entobacteriaceae y en bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF). En esta familia, las especies *Escherichia Coli* y *Proteus mirabilis* son las más frecuentes como causa de infecciones urinarias, tanto en la comunidad como en el hospital. Las causas de resistencia son múltiples. La resistencia a

fármacos betalactámicos (incluyendo derivados de la penicilina, cefalosporinas, monobactams, carbacefem, carbapenems e inhibidores de la betalactamasa) puede ocurrir por impermeabilidad, alteración de las PBP (Penicillin Binding Protein), eflujo y producción de betalactamasas. No hay duda de que este último mecanismo es el de mayor importancia clínica. Los betalactámicos actúan uniéndose covalentemente a las PBP localizadas sobre la membrana citoplasmática, por lo que no requieren atravesarla ni penetrar en el citoplasma bacteriano. Las PBP son las enzimas (transpeptidasas, carboxipeptidasas, endopeptidasas) encargadas del ensamble de la matriz rígida que forma la pared celular bacteriana, es decir, el peptidoglicano. Los betalactámicos son bactericidas lentos que solo actúan en la fase de división celular. Este es un aspecto trascendente en la práctica clínica, ya que la resistencia a los betalactámicos puede deberse a que las bacterias se encuentran en fase de reposo, como sucede en las vegetaciones cardíacas, secuestros óseos o bien cuando están localizadas intracelularmente (Casellas, J. 2011).

Algunas de las PBP también funcionan como enzimas hidrolíticas beta-lactámicas. Entre los principales mecanismos de resistencia tenemos:

- 1- Producción de beta-lactamasas, que acetilan el anillo beta-lactámico e inactivan la droga. Existen al menos 3 clases de beta-lactamasas. El proceso se transmite mediante plásmidos; las bacterias Gram negativas tienen una mayor variedad de beta-lactamasas, que pueden ser producidas por rutas directas desde los cromosomas. Los Gram negativos y los estafilococos son ejemplos bien conocidos de este tipo de resistencia. Las cefalosporinas son más estables que las penicilinas a la acción de las beta-lactamasas.
- 2- Proteínas ligadoras de penicilinas alteradas, a las que no pueden ligarse los antimicrobianos. Este mecanismo es responsable, de la resistencia de *Staphylococcus*

aureus a la meticilina, de la resistencia de *Streptococcus pneumoniae*, y de la incapacidad de las cefalosporinas para inhibir a los enterococos.

- 3- Incapacidad del agente terapéutico de alcanzar la proteína ligadora de penicilina específica, por cambios en proteínas llamadas porinas, que permiten el paso del beta-lactámico a través de la membrana lipídica exterior. Este mecanismo es principalmente importante en las bacterias gram-negativas (Agredas, J. 2010).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre los factores considerados como causantes de la resistencia antimicrobiana, están el uso inapropiado de antibióticos, la falta de sistemas de vigilancia efectivos en cada país y región, la ausencia de legislación que permita el control en el mercado de la venta de medicamentos en las farmacias y el uso extendido de antibióticos en animales destinados para el consumo humano. La identificación y vigilancia de nuevos patrones de resistencia a nivel local, nacional y global, permiten un análisis de la distribución y comportamiento de los patógenos multirresistentes; ésta se define como resistencia a tres o más clases de antibióticos activos contra un germen que, a su vez, permite el diseño y la implementación de guías sobre el uso racional de antibióticos, lo cual evita la instauración de terapias antimicrobianas inapropiadas y ayuda a disminuir la mortalidad hospitalaria . Además, el análisis de los datos por medio de los sistemas de vigilancia permite evaluar la efectividad de las intervenciones establecidas para contener la resistencia (Briceño, D. Correa, A. et al. 2010).

4.4 ANTIBIÓTICOS

4.4.1 DEFINICIÓN

La palabra antibiótico, son sustancias naturales, semisintéticas o sintéticas, que a concentraciones bajas, inhiben el crecimiento o provocan la muerte de microorganismo.

Para elegir el antibiótico debe realizarse de acuerdo con las características de cada paciente, según el sitio, la gravedad de la infección y el microorganismo

Clasificación de los antibióticos según su efecto

- **Bacteriostáticos:** Aquellos antibacterianos que, a las concentraciones que se alcanzan en el suero o los tejidos, inhiben el crecimiento de las bacterias, favoreciendo su posterior destrucción por el sistema inmunológico del paciente, pero que, por sí mismos, no destruyen a las bacterias, las cuales permanecen viables de tal que, al suspender el tratamiento, pueden desarrollarse de nuevo.
- **Bactericidas:** Son aquellos antimicrobianos que ocasionan la lisis de las bacterias. Con efectos irreversibles (Azuero, L. 2013).

4.4.2 CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas son un grupo grande de antibióticos utilizado con mucha frecuencia en la práctica de la medicina contemporánea. Su estructura química básica es un anillo beta-lactámico, similar al que tienen otros tipos de agentes antibacterianos, tales como las penicilinas, los carbapenémicos y los monobactámicos. Al núcleo básico de las cefalosporinas, el ácido 7-amino-cefalosporánico, se le pueden agregar cadenas laterales que originan diversos compuestos con variaciones en su espectro de actividad bacteriana y en sus propiedades físico-químicas. Desde el punto de vista bioquímico, son llamadas cefamicinas; sin embargo, farmacológica y microbiológicamente, se les considera cefalosporinas.

4.4.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas se han agrupado en cuatro diferentes grupos llamados generaciones, de acuerdo con su actividad antimicrobiana. Esa clasificación tiene gran utilidad práctica, pues las sustancias que conforman una misma generación, tienen propiedades similares; sin embargo, también existen algunas diferencias importantes entre

algunos compuestos de la misma generación. En general, debido a su mayor estabilidad contra las betalactamasas, las cefalosporinas tienen un espectro de actividad antibacteriano mayor que el de las penicilinas. Sin embargo, ninguna cefalosporina tiene actividad contra las cepas de estafilococos resistentes a la meticilina, ni contra los enterococos como *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus faecium*, ni tampoco contra *Listeria monocytogenes*. Las cefalosporinas de primera generación son útiles para el tratamiento de infecciones leves del tracto respiratorio, de la piel y de las vías urinarias. En contadas ocasiones son las drogas de primera escogencia. La cefazolina es extensamente recomendada como profilaxis preoperatoria (Agredas, J. 2010).

Las cefalosporinas de segunda generación en donde encontramos a Cefuroxima se utilizan en el tratamiento de infecciones de las vías urinarias e infecciones de las vías respiratorias inferiores causadas por bacilos Gram negativos. No deben usarse para tratar infecciones causadas por Enterobacter, a pesar de que pueden mostrar actividad in vitro contra especies de ese género. Cefaclor es especialmente usada para el tratamiento de las infecciones de las vías respiratorias Cefoxitina es útil en el tratamiento de la neumonitis por aspiración, e infecciones intra-abdominales y pélvicas. Cefotaxime, ceftriaxona y ceftizoxima se usan en el tratamiento de infecciones respiratorias nosocomiales, infecciones complicadas del tracto urinario, infecciones de la piel y el tejido subcutáneo, osteomielitis y meningitis. Por lo general, se usan combinados con otros antibióticos en los pacientes inmunocomprometidos, con fiebre y neutropenia. Ceftriaxona también se usa en el tratamiento de la gonorrea y la enfermedad de Lyme.

Se recomienda reservar el uso de ceftazidima y cefoperazona para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, en combinación con un aminoglucósido. Las dosis varían de acuerdo con el fármaco, el tipo de infección y su severidad de la misma (Agredas, J. 2010).

4.4.2.2 MECANISMOS DE ACCIÓN

Los antibióticos betalactámicos interfieren con la síntesis de la pared celular bacteriana. Específicamente, estos medicamentos se ligan de manera covalente e inhiben las enzimas transpeptidasas que participan en el último paso de la formación del peptidoglicano rígido; este componente es especialmente importante en la pared celular de las bacterias Gram positivas. Las enzimas transpeptidasas de la membrana citoplasmática bacteriana que son sensibles a los agentes beta lactámicos, son llamadas proteínas ligadoras de penicilinas. Esas proteínas varían en las distintas bacterias (Agredas, J. 2010).

4.4.2.3 CEFUROXIMA POLVO PARA DISOLVER (SOLUCIÓN INYECTABLE INTRAMUSCULAR)

Según el protocolo del CLSI – 2012 la técnica de macrodilución únicamente se puede llevar a cabo si el antibiótico ensayado es líquido e incoloro. Zinnat en presentación de solución inyectable 750 mg/ 3 ml. fue el antibiótico ensayado frente a las cepas de E.coli analizadas en este estudio (CLSI. 2012).

La cefuroxima tiene buena estabilidad ante la β -lactamasa bacteriana y por consiguiente es activa contra muchas cepas resistentes a la ampicilina o amoxicilina. La acción bactericida de la cefuroxima es consecuencia de su inhibición de la síntesis de la pared celular, al enlazarse con las proteínas objetivos esenciales.

Está indicada para el tratamiento de infecciones antes de que se haya identificado el microorganismo causal o cuando son causadas por bacterias sensibles. A pesar de que su principal uso es en infecciones respiratorias, está indicada para el tratamiento de infecciones del aparato urinario: Por ejemplo, pielonefritis aguda y crónica, cistitis y bacteriuria asintomática. Una de las ventajas de trabajar con cefuroxima en IVU es que no existen indicios experimentales de efectos embriopáticos o teratogénicos en el embarazo por ello puede ser ensayada en todo tipo de población excluyendo las personas alérgicas. La

cefuroxima se excreta por la leche materna y, por consiguiente, se deberá tener cuidado al ser administrada a una madre lactante (Glaxosmithline. S.A.).

4.5 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

4.5.1 DETERMINACIÓN DE IVU POR UROCULTIVO

El urocultivo convencional cuantitativo constituye un método de estudio de la infección del tracto urinario que no ha sido desbancado por las técnicas automatizadas. El cultivo de orina en medio apropiados es imprescindible para distinguir cualitativa y cuantitativamente una contaminación accidental de una bacteriuria significativa. Se realiza teniendo en cuenta la información obtenida en el examen microscópico del sedimento urinario y/o la orientación de una tinción de Gram de una gota de orina sin centrifugar (Jawetz, Meldnick, & Adelberg. 2011).

Usualmente, se emplean medios de cultivo adecuados para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos patógenos del tracto urinario, tales como agar sangre o agar chocolate, para la evaluación de la flora en general y en medio selectivo lactosado (agar MacConkey) para la diferenciación de enterobacterias y otros bacilos gramnegativo; muy utilizado es el agar CLED(cisteína, lactosa, deficiente en electrolitos) en el que crecen de manera diferencial casi todos los patógenos urinarios comunes. Si se sospecha la implicación de microorganismos especiales hay que disponer de medios de cultivo definidos: agar chocolate o agar Thayer Martin para *Neisseria gonorrhoeae*, medio Lowenstein- Jensen para *Mycobacterium tuberculosis*, previa descontaminación de la orina para eliminar la flora acompañante, agar Sabouraud con cloranfenicol para levaduras, agar sangre incubado en condiciones de anaerobiosis para bacterias anaerobias estrictas, etc. Para el recuento se utiliza generalmente un asa calibrada de 0.001ml o bien se parte de diluciones de la orina en solución salina estéril (1/10, 1/100), las cuales se inoculan a razón de 0,1 ml por placa. Las placas inoculadas se incuban a 35-37°C durante 18-24horas antes de proceder al recuento de las

colonias crecidas, teniendo en cuenta el volumen de la orina sembrado para calcular el número de colonias (UFC- unidades formadoras de colonias) por mililitro; la identificación del microorganismo es necesaria para valorar su significado clínico (Tumbaco, A., & Martínez, L. 2013).

4.5.2 TECNICAS DE DILUCIÓN

4.5.2.1 MACRODILUCIÓN

La prueba de dilución en caldo consiste en exponer el microorganismo de interés a agentes antimicrobianos en un medio líquido (caldo de cultivo). Cada agente antimicrobiano se prueba en un rango de concentraciones que suele expresarse en ug de fármaco activo / ml, el rango de concentraciones probado para cada fármaco depende de varios criterios, entre los que figura la concentración que es alcanzable con seguridad en el suero del paciente. Por consiguiente, el rango de concentraciones probado por lo general variará de un fármaco a otro en función de las propiedades farmacológicas de cada uno. Además, el rango de concentraciones probado puede basarse en el nivel de fármaco que necesita para detectar de forma más fiable un mecanismo de resistencia subyacente particular, en este caso la concentración de prueba para un fármaco puede variar según el microorganismo y las resistencias asociadas que se intenta detectar con la prueba. El rango típico de concentraciones probado para cada antibiótico es una serie de diluciones $\frac{1}{2}$ (p.ej. 16,8,4,2,1,0,5, 0,25 ug/ml); la menor concentración de antimicrobiano que inhibe por completo el crecimiento bacteriano observable, detectada visualmente o a través de un método automatizado o semiautomatizado se registra como Concentración Mínima Inhibitoria(CIM).

Las técnicas de dilución en caldo o agar, se pueden utilizar para medir cuantitativamente la actividad "in vitro" de un antimicrobiano frente a un cultivo bacteriano. Estos métodos se basan en la preparación de una serie de tubos o placas con caldo o agar,

respectivamente, a los cuales se les agrega el antibiótico (ATB) en distintas concentraciones. Luego se inoculan cada uno de los tubos o placas con una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio. Las pruebas se examinan después de incubar “overnight” a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y se determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) del antimicrobiano frente al microorganismo ensayado.

El valor de CIM obtenido por el método de dilución, orienta al clínico sobre que concentración de antibiótico necesita alcanzar en el sitio de infección para inhibir el microorganismo infectante. La CIM, sin embargo, no representa un valor absoluto. La CIM real puede estar entre la menor concentración de antibiótico que inhibe al microorganismo y la siguiente donde se observa desarrollo del mismo. Si por ejemplo, fueran probadas diluciones al medio y se determina una CIM de $16 \mu\text{g/ml}$, el verdadero valor podría estar entre 16 y $8 \mu\text{g/ml}$. Debe tenerse en cuenta que a pesar de realizar las pruebas de dilución bajo condiciones cuidadosamente controladas, no siempre se obtienen los mismos resultados. Generalmente, la reproducibilidad de esta prueba es de ± 1 dilución. Para evitar gran variabilidad en los resultados, se debe estandarizar y controlar cuidadosamente la prueba de dilución tal como se describe en este documento (CLSI. 2012).

Además de la CMI es necesario a veces evaluar el efecto bactericida para determinar la concentración mínima bactericida (CMB). La CMB se puede calcular partiendo del método de dilución en caldo y determinando la proporción de bacterias viables de 18-24 horas de contacto con el caldo que contiene el antibiótico (Gamazo, C., Lòpez, I., Dìaz, R. 2005).

4.5.2.2 MICRODILUCIÓN

La técnica de microdilución en caldo es de gran utilidad práctica para el estudio de la CIM. No es más que la técnica de dilución en medio líquido, señalada anteriormente, pero realizada en placas de poliestireno, con micropocillos en lugar de tubos. Existen

comercializados diversos paneles con varias columnas de pocillos cada una con diferentes antimicrobianos. Los pocillos de cada columna contienen concentraciones crecientes de un antibiótico en forma de suspensión liofilizada o desecada, por lo que solo debe añadirse el medio de cultivo líquido en el que se ha efectuado una suspensión de la bacteria a estudiar (generalmente alrededor de 200ul de medio por pocillo). Tras la incubación, se determina la CIM (Michay, A. 2012).

4.5.2.3 DISCO DIFUSIÓN EN AGAR

Un método muy utilizado por su sencillez en el estudio de la sensibilidad bacteriana es el de difusión en agar. Se basa en la inhibición del crecimiento de la bacteria alrededor de un disco cargado con un antimicrobiano que difunde en un medio sólido.

Esta técnica consiste en la siembra de la bacteria en la superficie de una placa con un medio de cultivo, sobre el que se depositan unos discos de papel cargados con una cantidad precisa de antibiótico que difunde casi instantáneamente a través del agar, formándose un gradiente de concentración del mismo alrededor del disco. Posteriormente, se lleva a incubar a 37°C durante 18 horas. El microorganismo crece en la superficie de la placa, pero alrededor de los discos se forman unos halos de inhibición más o menos grandes, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria a cada antibiótico. Se mide el diámetro del halo y se lleva a las tablas que correlacionan el diámetro con la sensibilidad. La técnica de difusión se trabaja con puntos de corte, basados en dos medidas, un diámetro menor del halo de inhibición, por debajo del cual el microorganismo es resistente (R), y un diámetro mayor, por encima del cual es sensible (S). Entre ambos diámetros la sensibilidad se considera intermedia o indeterminada (Michay, A. 2012).

4.5.2.4 ÉPSILON TEST

Existe una prueba de dilución en gradiente denominado Épsilon Test que combina la simplicidad y flexibilidad de las pruebas de disco-difusión con la capacidad para cuantificar la concentración mínima inhibitoria de las técnicas de dilución.

El E-test consiste en una tira de plástico no poroso de 5cm de largo por 5mm de ancho a lo largo de la cual se dispone un gradiente predefinido y señalado en la tira de un antimicrobiano equivalente a 15 concentraciones dobles progresivas. Una vez que se ha sembrado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre la superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte de plástico hasta el agar, creándose de este modo alrededor y a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar a ambos lados de la tira una zona de inhibición elipsoidal y simétrica, la carga indicada del punto de la tira en que el extremo de la zona de inhibición intersecciona con ella es el valor de la CIM (Michay, A. 2012).

4.5.2.5 PRUEBAS AUTOMATIZADAS

La determinación de la CIM y la difusión en disco requieren la incubación durante toda la noche además de las 24 horas necesarias para aislar el microorganismo. La obvia necesidad de abreviar los tiempos en los pacientes internados en una IVU condujo al desarrollo de sistemas comerciales que permiten obtener resultados de sensibilidad a los antimicrobianos en el curso de 3 a 7 horas.

Los bacilos entéricos gramnegativos pueden evaluarse mediante cualquiera de los sistemas comerciales disponibles que leen e interpretan los resultados por técnicas fotométricas. Estos sistemas automatizados son confiables en comparación con las determinaciones de la CIM y permiten evaluar entre 9 y 20 fármacos al mismo tiempo (Camacho, 2010).

5. METODOLOGÍA

5.1 Tipo de estudio:

El presente trabajo de investigación es de tipo descriptivo de corte transversal

5.2 Área de estudio:

- Hospital Militar Brigada Nro.7 de la ciudad de Loja ubicado en las calles Colón entre Bernardo Valdivieso y Bolívar.

5.3 Universo: El universo estuvo constituido por 146 pacientes que acudieron a consulta externa del Hospital Militar HB-7 de la ciudad de Loja con pedido de urocultivo durante el periodo marzo- mayo 2015

5.4 Muestra: 45 urocultivos positivos a *Escherichia coli*.

5.5 Criterios de inclusión:

- Personas que firmaron consentimiento informado.
- Personas con solicitud de urocultivo atendidos en consulta externa
- Personas cuyos urocultivos sean positivos para *E. coli spp.*

5.6 Criterios de exclusión:

- Urocultivos negativos para *E. coli spp.*

5.7 Métodos, técnicas y procedimientos:

Para realizar el presente proceso investigativo se emplearon las siguientes técnicas y procedimientos:

5.7.1 Desarrollo de la fase pre-analítica

- Se entregó un oficio al Teniente Coronel Edison Moreno, director del Hospital Militar Brigada Nro. 7 Loja, solicitando autorización para la ejecución del estudio. (Anexo Nro.1)
- Se realizó un oficio dirigido al Ing. Patricio Aguirre, Director del Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de Loja, solicitando permiso para realizar el análisis de muestras de orina, haciendo uso de las instalaciones y equipos del CISAQ-UNL (Anexo Nro.2)
- Se aplicó el respectivo consentimiento informado a los pacientes de consulta externa con pedido de urocultivo.(Anexo Nro.3) (Anexo Nro.3.1)
- Entrega del protocolo de toma de muestra (Anexo Nro.4)
- Protocolo de transporte y conservación de muestra (Anexo Nro.5)
- Elaboración de las hojas formato para registro de pacientes (Anexo Nro.6)
- Preparación de medios de cultivo para su posterior uso en fase analítica: Agar Sangre usando hemoglobina liofilizada de cordero (Anexo Nro.7) (Anexo Nro.7.1), Agar MacConkey(Anexo Nro.8), Caldo Mueller-Hinton (Anexo Nro.9), Urea Agar Base Christensen se adicionó urea al 50%(Anexo Nro.10), Agar Simmons Citrato (Anexo Nro.11), Triple Azucar Hierro Agar (Anexo Nro.12), Agar SIM (Anexo Nro.13), Agar Lisina Descarboxilasa (Anexo Nro.14).

5.7.2 Desarrollo de la fase Analítica

- Validación de metodología y control de calidad: Cepa control (Anexo Nro.15), Control de Calidad de medios de cultivo (Anexo Nro. 16), Prueba Piloto (Anexo Nro.17)

- Cultivo de orina: se procedió a realizar el cultivo de orina aplicando el método De Kass sembrando el espécimen biológico 3 veces con un asa calibrada en un medio base: Agar Sangre y uno diferencial: Agar MacConkey, (Anexo N°18)
- Clasificación de bacterias: A continuación se realizó la tinción de Gram (Anexo N°19), prueba de oxidasa (Anexo N°20) y catalasa (Anexo N°21) a partir de las colonias aisladas para identificar entre bacterias: Gram positivas y Gram negativas.
- Identificación de la especie bacteriana a partir de colonias aisladas diferenciadas como gram negativas se realizó pruebas bioquímicas sembrando por triplicado en: Agar Citrato Simmons (Anexo N°22), Agar Urea Base (Anexo N°23), Agar Triple Sugar Iron (Anexo N°24), Agar Lisina (Anexo N°25), Agar SIM. (Anexo Nro.26)
- Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) por triplicado usando el método de Macrodilución siguiendo el protocolo .(Anexo N°27)

5.7.3 Desarrollo de la Fase Post Analítica

- Registro de resultados: Pruebas Bioquímicas (Anexo N°28), Concentración Mínima Inhibitoria (Anexo Nro.29)
- Se realizó la socialización de resultados. (Anexo N°30)
- Certificado de realización de la tesis en CISAQ-UNL (Anexo Nro.31)

5.7.4 Plan de tabulación

Para la presentación de resultados se utilizó el programa Microsoft Excel. Posterior a ello se procedió a elaborar gráficas y tablas que permitieron realizar una mejor interpretación y análisis de los datos obtenidos en el presente estudio investigativo.

5.7.5 Análisis de los resultados

Los resultados obtenidos en el presente estudio serán expresados en forma porcentual a través de tablas y gráficos.

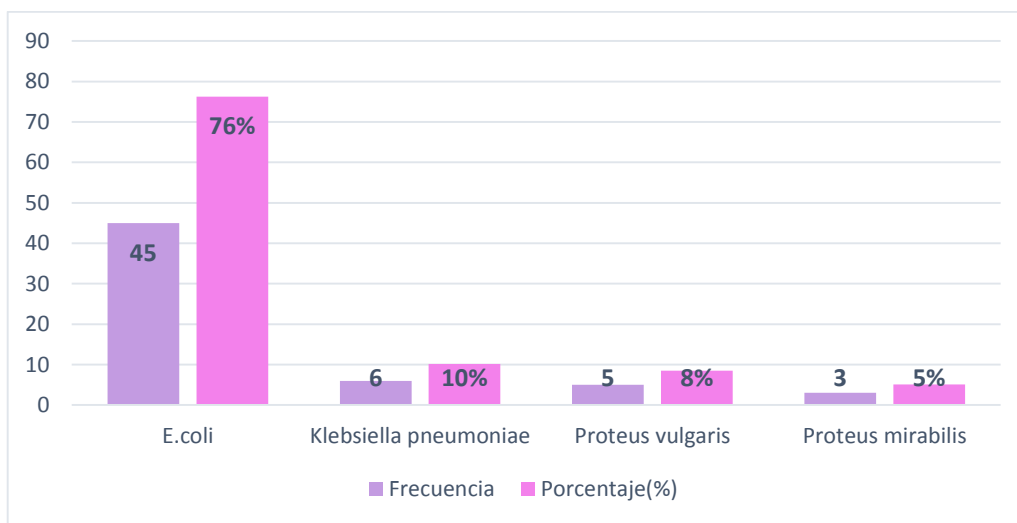
6. RESULTADOS

TABLA N°1
UROCULTIVOS REALIZADOS A PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA

MICROORGANISMO IDENTIFICADO	F	%
<i>E.coli</i>	45	76
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	10
<i>Proteus vulgaris</i>	5	8
<i>Proteus mirabilis</i>	3	5
TOTAL	59	100

Fuente: Registro de datos de la investigación
Elaborado por: Daniela Alejandra Flores Pasaca

GRÁFICO N°1
UROCULTIVOS REALIZADOS A PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA EXTERNA



Fuente: Registro de datos de la investigación.
Elaborado por: Daniela Alejandra Flores Pasaca

INTERPRETACIÓN:

De los 59 urocultivos positivos, los patógenos aislados con mayor frecuencia fueron: en 45 urocultivos se identificó *Escherichia coli* (76%), 6 urocultivos *Klebsiella pneumoniae* (10%), 5 urocultivos *Proteus Vulgaris* (9%) y 3 urocultivos *Proteus mirabilis* (5%).

TABLA N°2

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE CEFUROXIMA FRENTE A ESCHERICHIA COLI AISLADA DE UROCULTIVOS

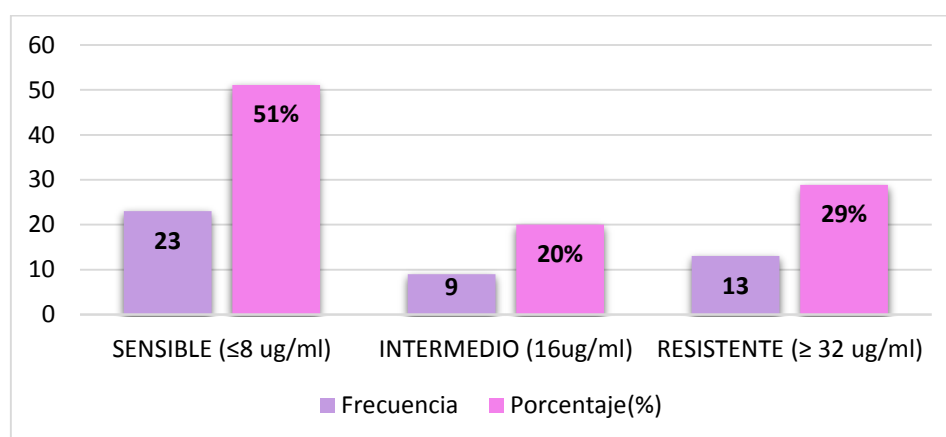
CMI de <i>E.coli</i> spp.	CEFUROXIMA	F	%
SENSIBLE	≤8 ug/ml	23	51
INTERMEDIO	= 16 ug/ml	9	20
RESISTENTE	≥ 32 ug/ml	13	29
TOTAL		45	100

Fuente: Registro de datos de la investigación.

Elaborado por: Daniela Alejandra Flores Pasaca

GRÁFICO N°2

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A ESCHERICHIA COLI AISLADA DE UROCULTIVOS



Fuente: Registro de datos de la investigación.

Elaborado por: Daniela Alejandra Flores Pasaca

INTERPRETACIÓN:

De las 45 cepas de *Escherichia coli* ensayadas. Se pudieron obtener los siguientes resultados: 51% Sensibles, 29% Resistentes y 20% Intermedio, según los puntos de corte de CMI para Cefuroxima del Manual del CLSI M100-S25 del año 2015.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Luego de realizado el trabajo de campo dentro del laboratorio clínico del HB-7 de la ciudad de Loja, se llevó a cabo la difusión de resultados el día 5 de Agosto de 2015 a las 8H00 am. En el salón de exposiciones del HB-7 con la aprobación del Tnte. José Zambrano. En este acto se abordaron temas como: Infección de Vías Urinarias (IVU), antibióticos más usados en IVU, resistencia bacteriana, Escherichia coli en IVU, Método de macrodilución, objetivos, resultados de la investigación, conclusiones y recomendaciones.

7. DISCUSIÓN

El presente estudio estuvo orientado a determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de Cefuroxima frente a *E.coli* aislada de urocultivos de pacientes de consulta externa en el HB-7 durante el período marzo-mayo 2015.

Se analizó mediante urocultivo 146 pacientes de consulta externa de los cuales 59 fueron positivos en los que se identificó 4 tipos de bacterias causantes de Infección de Vías Urinarias (IVU): *Escherichia coli* (76%), *Klebsiella pneumoniae* (10%), *Proteus vulgaris* (8%) y *Proteus mirabilis* (5%). Además mediante método de macrodilución se pudo determinar que la susceptibilidad de *E.coli* frente a cefuroxima fue: Sensibles (51%), Resistentes (29%) e Intermedio (20%), según los puntos de corte de CMI para Cefuroxima del Manual del CLSI M100-S25 del año 2015.

Según el estudio realizado en el año 2008 denominado: Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de 1200 microorganismos Gram negativos causales de infecciones de vías urinarias; aislados en pacientes de Consulta Externa de los Hospitales del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS, se realizó 1200 aislamientos de bacterias Gram negativas, en ambos sexos y todas las edades con infecciones de vías urinarias no complicadas mediante la técnica de microdilución en placa donde se obtuvieron los siguientes resultados: los gérmenes identificados fueron *Escherichia coli*: 638 (53.2%), *Klebsiella spp.*: 166 (13.9%), *Proteus spp.*: 110 (9.1%); *Morganella morganii*: 84 (7.0%); *Serratia spp.*: 84 (7.0%), *Enterobacter spp.*: 66 (5.5%) y *Citrobacter spp.*: 52 (4.3%). En donde *E.coli* obtuvo un porcentaje de 55.2% cepas resistentes a Cefuroxima, 2,8% con sensibilidad intermedia y 42% cepas sensibles.

Haciendo la comparación con el estudio de nuestra comunidad podemos observar que los porcentajes de sensibilidad y susceptibilidad intermedia son valores aproximados a los de nuestra población y el porcentaje de cepas resistentes a Cefuroxima fue mucho más elevado

en los pacientes atendidos en Consulta Externa de los Hospitales del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS (Barriga, G., Mercado, Nina., Arurrir, C. 2008).

Los dos estudios fueron realizados por método de dilución en caldo. El estudio realizado en el Centro Médico Nacional La Raza del IMSS fue desarrollado mediante método de microdilución en placa (Microscan, Dade Bhering, Sacramento California, Estados Unidos de América), en comparación con el presente estudio en el cual los análisis de susceptibilidad se realizaron por macrodilución en tubos, es decir con un volumen final mayor. A pesar del cambio de volúmenes podemos observar que los resultados de susceptibilidad de *E.coli* frente a Cefuroxima, no varían tanto entre el año 2008 y 2015, considerando que los 2 estudios tienen el mismo tipo de población en estudio. Por lo tanto podemos decir que Cefuroxima es un antibiótico que puede ser usado en el tratamiento inicial de una IVU, y confirmando que la técnica de dilución en caldo resulta ser el mejor método de estudio de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*.

En el estudio denominado: “Fosfomicina: un antibiótico infravalorado en infecciones urinarias por *Escherichia coli*”, se analizó de manera retrospectiva la sensibilidad de los aislamientos extrahospitalarios de *E. coli* obtenidos a partir de urocultivos realizados en el Laboratorio de Microbiología del Área 11 de Madrid desde el año 1997 al 2000 a los siguientes antibióticos: ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cefalotina, cefuroxima, trimetoprim sulfametoxazol, fosfomicina trometamol, nitrofurantoina y ciprofloxacino. La determinación de la sensibilidad se llevó a cabo por el sistema de microdilución automático VITEK (bioMérieux, France) obteniendo valores de CMI y su correspondiente categorización de los resultados en sensible (S) o resistente (R), siguiendo los criterios del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Para ampicilina, cefalotina y cefuroxima las concentraciones críticas ($\mu\text{g/ml}$) de S y R fueron ≤ 8 y ≥ 32 , respectivamente.

Se obtuvieron 16.227 aislamientos de *E. coli*, representando el 80,1% del total de uropatógenos. El porcentaje de sensibilidad de *E.coli* a Cefuroxima fue 87,5% (Garau, M., Latorre, A., Alonso-Sanz, M. 2003).

Al contrastar los resultados de esta investigación, se observa que en el año 1997-2000 la sensibilidad de *E.coli* para cefuroxima era mayor 87,5%, en contraste con nuestro estudio en donde la sensibilidad fue de 51%, evidenciando así la marcada resistencia que las cepas de *E.coli* presentan debido a que: 1. *E.coli* es el germen más comúnmente aislado de IVU, 2.la existencia de cepas *E.coli* multirresistentes como las productoras de BLEE, 3. automedicación, 4. tratamientos incompletos entre otras.

8. CONCLUSIONES

- En 59 urocultivos positivos (40%) se pudo identificar que el principal microorganismo causal de IVU fue *E.coli* con un 76%, evidenciando que es el agente etiológico de vías urinarias más común e históricamente más frecuente
- Con la información obtenida en el presente estudio de Macrodilución se pudo detectar una alta sensibilidad antimicrobiana 51% de *E.coli* frente a Cefuroxima, 20% con sensibilidad intermedia y 29% de cepas resistentes cepas con Concentración Mínima Inhibitoria más elevadas de lo normal, asociado a la falla terapéutica según los puntos de corte de CMI para Cefuroxima del Manual del CLSI M100-S25 del año 2015
- Luego de socializados los resultados en el salón de exposiciones del Hospital Militar HB-7 Loja pude llegar a la conclusión de que cefuroxima es un antibiótico que todavía puede emplearse como tratamiento inicial en una Infección de Vías Urinarias además que una correcta toma de muestra es un paso fundamental para garantizar la fiabilidad de resultados.

9. RECOMENDACIONES:

- Luego de la charla de socialización de resultados al personal de salud del HB-7 se pudo observar que la mayor causa de errores al momento de analizar una muestra de orina se dan en la fase pre-analítica por una mala toma de muestra, razón por la cual se recomienda al personal de salud que se instruya de manera continua a los pacientes sobre la importancia de una buena toma de muestra para que de esta manera exista un mejor análisis y una mayor confiabilidad de resultados.
- Al personal de Laboratorio Clínico del Hospital Militar HB-7, se sugiere que se sigan realizando estudios empleando el método de macrodilución, con el propósito de conocer la resistencia que tienen los patógenos causales de infección de vías urinarias, razón de gran número de casos de morbi-mortalidad en la zona 7.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Agredas, J. (2010). *Actualización en farmacoterapia: cefalosporinas*. Rev. AMPMD. Recuperado de: <https://cefalosporinas.files.wordpress.com/2010/09/cefalosporinas.pdf>
- Azuero, L. (2013). *Sensibilidad Antimicrobiana de Escherichia coli en pacientes con infecciones de vías urinarias que acuden al Hospital IESS en el periodo de diciembre 2012- febrero 2013*. Universidad Nacional de Loja. Loja-Ecuador. Recuperado de: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/7003/1/Azuero%20Palta%20Leon%20Fabricio%20.pdf>
- Bautista, M. (2011). *Factores de riesgo en infección de vías urinarias en las mujeres del Centro de Rehabilitación Social de Loja, durante el período marzo-agosto del 2011*. Universidad Nacional de Loja. Recuperado de : <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/6691/1/Bautista%20Padilla%20Martha%20del%20Roc%20C3%ADo%20.pdf>
- Barriga, G., Mercado, Nina., Arurir, C. (2008). *Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de 1200 microorganismos Gram negativos causales de infecciones de vías urinarias*. ENF INF MICROBIOL.28 (3): 90-98. México. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2008/ei083b.pdf>
- Briceño, D. , Correa, A. et al. (2010). *Actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia: años 2006, 2007 y 2008*. Biomédica vol.30 no.3 Bogotá July/Sept. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012041572010000300010&script=sci_arttext
- Brito, M. , Alvarez, D., Mena, R. (2010). *Comportamiento de la infección del tracto urinario en pacientes del hospital Héroes de Baire 2006*. Hospital Universitario Héroes de Baire, Isla de la Juventud. ISSN 1729-519X. Recuperado de:http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729519X2010000100008&script=sci_attext
- Camacho. V. (2010). *Los antimicrobianos en la práctica médica*. . 30 Diciembre 2014, De Red De Salud De Cuba Sitio Web: <Http://Www.Sld.Cu/Galerias/Pdf/Sitios/Urgencia/Antibioticos.Pdf>
- Casellas, J. (2011). *Resistencia a los antibacterianos en America Latina: consciencias para la infectologia*. Rev Panam Salud Pública;30(6):519–28 Recuperado de: <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v30n6/a04v30n6.pdf>
- CLSI. (2012). *Método de Determinación de Sensibilidad Antimicrobiana por Dilución*. Clinical and Laboratory Standars Institute CLSI. MIC testing. Volúmen 32.Recuperado de: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>.
- Gamazo, C., Lòpez, I., Dìaz, R. (2005). *Manual Práctico de Microbiología*. Tercera Edición. Editorial Elsevier.

- Garau, M., Latorre, A., Alonso-Sanz, M. (2003). *Fosfomicina: un antibiótico infravalorado en infecciones urinarias por Escherichia coli*. Hospital universitario 12 de Octubre. Recuperado de: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13023812&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=110&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v19n10a13023812pdf001.pdf
- Glaxosmithline S.A. Zinnat Inyectable. Lima- Perú. Av. Javier Prado Oeste No. 995 San Isidro. Tel: 211-9700. Fax: 211-9716. Recuperado de: <http://corporacionmisalud.com/sistema/vademecum/PLM/productos/32790.html>
- Hospital Regional Isidro Ayora. (2014). *Registro Interno de Microbiología*
- Ilijama, R. (2014). *Resistencia bacteriana a fluroquinolonas en pacientes hospitalizados con infecciones de vías urinarias atendidos en el hospital IESS de Ambato*. Universidad Técnica de Ambato. Ambato- Ecuador. Recuperado de :
- INEC. (2011). *Anuario de Estadísticas Vitales. Diez principales causas de morbilidad femenina. . 30 Diciembre 2014, de Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador*. Sitio web: http://www.inec.gov.ec/interna.asp?inc=enc_tabla&idTabla=636200605
- Jawetz , Melnick & Adelberg. (2011). *Microbiología Médica*. México: Editorial MGH. 25ª Edición. Mexico.
- Koneman, E.; Allen, S. et al. (2006). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina- Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. 6ª Edición. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&dq=koneman+diagnostico+microbiologico&hl=es&sa=X&ei=_xyUVdCyBozsQH6mK9A&sqi=2&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=koneman%20diagnostico%20microbiologico&f=false
- Michay, A. (2012). 7. *Determinación de la susceptibilidad antibiótica de Escherichia coli en urocultivos realizados en el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja*. 31 Diciembre 2014, De Universidad Nacional De Loja Sitio Web: <Http://Dspace.Unl.Edu.Ec/Jspui/Handle/123456789/5676>
- Miranda, T. (2013). *Incidencia de pielonefritis Aguda en gestantes de 18 a 25 años de edad en el Hospital Gineco-Obstetrico Enrique C. Sotomayor de septiembre del 2012 a febrero del 2013*. Universidad de Guayaquil. Recuperado de : <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1874/1/TESIS.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. (2010). *Manual de Laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo del desarrollo. Parte 2. Medicina & Laboratorio, Volumen 15, Números 3-4*. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl093-4d.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. (2015). *Resistencia a los antimicrobianos*. Nota descriptiva N°194 Abril de 2015. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- Prats, G.(2006). *Microbiología Clínica*. Buenos Aires- Madrid. Editorial Médica Panamericana S.A. 1ª Edición. Recuperado de:

<https://books.google.com.ec/books?id=TdsoWPEYaoUC&pg=PA41&dq=microbiologia+familia+enterobacteriaceae&hl=es&sa=X&ei=qHCUVazvOIm5AGqv4HQCg&ved=0CEoQ6AEwCA#v=onepage&q=microbiologia%20familia%20enterobacteriaceae&f=false>

- Rodríguez, G. (2012). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. 29 diciembre 2014, de Salud Pública México Sitio web: http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf
- Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. México D.F. Editorial Médica Panamericana. 3ª Edición. Recuperado de: <https://books.google.com.ec/books?id=Wv026CUhR6YC&pg=PA753&dq=microbiologia+E.+coli&hl=es&sa=X&ei=4RuUVabKIMzz-AGa6IHYBQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=microbiologia%20E.%20coli&f=false>
- Tumbaco, A., & Martínez, L. (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*. Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.upse.edu.ec:8080/bitstream/123456789/1003/1/TESIS%20INFECCIONES%20%20URINARIAS.pdf>
- Wein, A., et. al. (2008). Campbell- Walsh. *Urología*. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 9ª Edición. Tomo I. Recuperado de: <https://books.google.com.ec/books?id=ONKWVHU5SNMC&pg=PA228&dq=infeccion+de+vias+urinarias+vias+de+infeccion&hl=es&sa=X&ei=vzGUVc7xCoOpQG98bbYBA&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=infeccion%20de%20vias%20urinarias%20vias%20de%20infeccion&f=false> (Jawetz, Meldnick, & Adelberg, 2011.)

11. ANEXOS

ANEXO N°1

OFICIO DIRIGIDO AL DIRECTOR DEL HOSPITAL MILITAR HB-7 LOJA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

Loja, 02 de Marzo del 2015

Cnrl. Edison Moreno

DIRECTOR DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro. 7 DE LA CIUDAD DE LOJA

Ciudad.

De mis consideraciones:

Por el presente y dando cumplimiento al proyecto de tesis de autoria de la estudiante Daniela Alejandra Flores Pasaca, del septimo módulo de la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, certifico que el proyecto ha cumplido todos los requisitos para su respectiva ejecución; así mismo se concede el permiso correspondiente para la obtencion de las muestras de orina de pacientes de consulta externa que acuden al Hospital Militar con pedido de urocultivo en el periodo Marzo- Abril 2015, el cual tiene como tema: **CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A *Escherichia Coli.spp* AISLADA DE UROCULTIVOS EN PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 DE LA CIUDAD DE LOJA.**

Por la atencion que le conceda a la presente, le expreso mis sentimientos de agradecimiento y consideracion.

Muy atentamente,

Dra. Paola Benitez

Dra. Paola Benitez Castellón
BIOQUIMICA FARMACEUTICA
AFIL. 0087
CÓDIGO 11-07-8500 00

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO.

SECCION: _____
FECHA: 02/03/2015
HORA: 12H06
AUTORIZADO: Antonio Basco
COORDINADOR: Antonio Basco

ANEXO N° 2

OFICIO DIRIGIDO AL DIRECTOR DEL CISAQ-UNL

Loja, 20 de marzo de 2015.

Ing. Patricio Aguirre

**DIRECTOR DEL LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.**

Ciudad:

De mis consideraciones:

Yo *DANIELA ALEJANDRA FLORES PASACA*, con cédula de ciudadanía N° 1105164915, estudiante del octavo módulo 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 a la vez desearle éxitos en sus funciones.

Aprovechando la oportunidad para solicitarle de la manera mas comedida se digne en autorizarme el permiso correspondiente para realizar el procesamiento de las muestras en el LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO; a la misma vez, el uso de los equipos para llevar a cabo mi proyecto de tesis en el periodo marzo-mayo del 2015 que tiene como tema: *CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE CEFUROXIMA FRENTE A ESCHERICHIA COLI.spp AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA N°7 DE LA CIUDAD DE LOJA*, tengo a bien solicitar se me conceda el permiso respectivo para el desarrollo del mismo que tiene como propósito servir de aporte para el conocimiento en beneficio de los pacientes.

Por la favorable atención que le conceda a la presente, le expreso mis sentimientos de agradecimiento, consideración y estima

Muy Atentamente.



Daniela Alejandra Flores Pasaca
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CC: 1105164915



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

Fecha: 05-02-15



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA
MENORES DE EDAD

Sr/Sra. Sra. Capelero mayor de
edad con domicilio Sra. Capelero
C.I. 1104269432 padre/madre de el/la menor

MANIFIESTAN

Que consienten la participación de el/la menor 5 de 5 años de edad, en el proyecto de investigación denominado: **CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE GENTAMICINA, CEFUROXIMA, CEFTRIAXONE, AMPICILINA, CEFOTAXIMA, CRIPOFLOXACINA Y AMIKACINA, FRENTE A Escherichia coli. AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA.**

6. La orina será utilizada para urocultivo el cual va a determinar si hay presencia de *Escherichia coli*. Si hay la presencia de esta bacteria, se realizará la concentración mínima inhibitoria de todos estos antibióticos que podrá ser usado para el tratamiento de **infección de vías urinarias.**
7. Los resultados de las pruebas no podrán ser divulgados con el nombre de mi hija/hijo sin mi autorización previa.
8. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto de tesis sin mi consentimiento.
9. En el supuesto de que la autoridad judicial exija la revelación de alguna información, **el/la laboratorista estará obligada a proporcionar sólo aquella que sea relevante para el asunto en cuestión** manteniendo la confidencialidad de cualquier otra información.
10. La participación de mi hija/hijo 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 PADRE/MADRE: [Firma]

C.I: 1104269432

FIRMA DEL INVESTIGADOR: [Firma]

C.I: _____



ANEXO N° 3.1

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MAYORES DE EDAD

ANEXO Nro. 3



Fecha: 25-05-15

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, identificado con cédula de ciudadanía Nro. declaro que he sido informado de los siguientes aspectos concernientes al estudio "CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE GENTAMICINA, CEFUROXIMA, CEFTRIAXONE, AMPICILINA, CEFOTAXIMA, CRIPOFLOXACINA Y AMIKACINA, FRENTE A *Escherichia coli*. AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA Nro.7 LOJA" en el que participaré voluntariamente como sujeto:

5. La orina será utilizada para urocultivo el cual va a determinar si hay presencia de *Escherichia coli*. 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.
6. Los resultados de las pruebas no podrán ser divulgados con mi nombre sin mi autorización previa.
7. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto de tesis sin mi consentimiento.
8. 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.

D..... 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 Nro. 11.013.67.530 Fecha: 25-05-15

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



PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE ORINA

Exámenes de orina aislada

Para la correcta interpretación de los resultados es muy importante su colaboración y es fundamental que usted recolecte la primera orina de la mañana: No forzar la obtención de la muestra mediante ingestión de líquidos ya que esto diluye la orina, alterando el recuento de microorganismos. Antes de la recolección de la orina debe realizar un aseo de la zona genital

Paciente mujer:

Lave los genitales, separando cuidadosamente los labios mayores, con un algodón embebido en agua y limpiando de adelante hacia atrás una sola vez. Repita el procedimiento con otro algodón. Enjuague con abundante agua y seque la zona con un paño seco y limpio. Evite recolectar la muestra si está en su período menstrual.

Paciente hombre:

Retraiga la piel anterior del pene (prepucio) y lave la zona con algodón embebido en agua jabonosa. Enjuague con agua y no toque la zona aseada. Seque con un paño seco y limpio.

Recolección de orina

Luego del aseo genital, elimine el primer chorro de orina y sin cortar la micción, recolecte el segundo chorro de orina en un frasco o tubo (estériles para Urocultivo). Llene más de la mitad y tápelo. Escriba su nombre y dos apellidos en el tubo. Transporte de orina al laboratorio

El tubo se transporta dentro de una bolsa de plástico cerrada. Lleve la muestra antes de 2 horas a la toma de muestra del Laboratorio Central.

REFERENCIAS

- Rojas, F., Gutiérrez, P. (2010). *Manual de toma de muestras de Laboratorio Central*. Hospital del Salvador. Recuperado de: http://www.hsalvador.cl/documentos/Manual_toma_de_muestra.pdf

ANEXO N°5

PROTOCOLO DE TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRA (ORINA)

Las muestras remitidas al laboratorio deben cumplir una serie de condiciones generales de las que depende la calidad y eficiencia de los resultados microbiológicos:

- ✓ Las cajas inoculadas del microorganismo deben transportarse de inmediato al laboratorio; para ello, se colocan con la tapa hacia abajo sobre el medio de transporte. No deben utilizarse fijadores ni sustancias conservantes.
- ✓ El tiempo de envío debe ser antes de 1 o 2 h a temperatura ambiente.
- ✓ Enviar en contenedores estériles (couler), de un solo uso y con cierre hermético que conserven la temperatura y las condiciones de crecimiento del microorganismo. (37 C)
- ✓ Las muestras inoculadas deben ser almacenadas en estufa o incubadora a 37 C para su crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- Sahm, D. & Weissfeld, A. (2009). *Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico*. Argentina- Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. 12ª Edición. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA80&dq=tecnica+de+la+tincion+de+gram&hl=es&sa=X&ei=6gWaVYawBceWgwTigL_YCQ&ved=0CCAQ6AEwAQ#v=onepage&q=tecnica%20de%20la%20tincion%20de%20gram&f=false

ANEXO N° 6

REGISTRO GENERAL DE PACIENTE



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

AREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

REGISTRO DE DATOS DEL USUARIO

Nro.	Nombres y Apellidos	Cédula de Identidad	Teléfono	Sexo:	Observaciones:

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

SANGRE AGAR BASE

Principio: Contiene peptona especial que soporta rápido y abundante crecimiento de microorganismos exigentes y no exigentes, promueve la morfología típica colonial; mejora la producción de pigmentos y reacciones hemolíticas más claramente definidos. Este medio se utiliza como base para los medios que contienen sangre y para las formulaciones de medios selectivos en los que diferentes combinaciones de agentes antimicrobianos se utilizan como aditivos.

INSTRUCCIONES

Preparación:

- ✓ Suspender 44 g de agua en 1000 ml de agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos.
- ✓ Enfriar a 45-50 ° C antes de añadir compuestos sensibles al calor.

1. **Para el Agar Sangre:** Añadir 5% v / v de sangre de oveja desfibrinada estéril fresco base. Colocar el medio en cajas Petri estériles, tapar, esperar a que se enfríen, empacar y guardarlas en refrigeración con la tapa hacia abajo (4 ° C) hasta su utilización.

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia:** Crema a amarillo polvo fluido homogéneo
- **Gelificación:** Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar
- **El color y la claridad de medio preparado:**
Medio de base: La luz de color ámbar transparente a ligeramente opalescente gel.
Después de la adición de 5% w/v de sangre desfibrinada estéril: Cereza formas opacas de color rojo de gel en placas de Petri.
- **Reacción:** 4,4% w/v solución acuosa a 25 ° C. **pH:** 7,3 ± 0,2
- **Cajas Petri con Medio Agar Sangre:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 cajas al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que las cajas están contaminadas y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, las cajas están listas para su uso.

RESPUESTA DEL CULTIVO

Características culturales observados con adición de 5% w/v sangre desfibrinada estéril, después de una incubación a 35-37 ° C durante 24-48 horas .

Organismo	Inóculo (CFU)	Crecimiento	Hemólisis
<i>Escherichia coli</i>	50-100/ UFC	Colonias medianas de color blanquecino, cremosas y redondeadas.	No, pero algunas cepas producen.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Columbia blood Agar base* (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M144.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

ANEXO N° 7.1

PROTOCOLO DE PREPARACION HEMOGLOBINA LIOFILIZADA DE BOVINO
BBL

REF. 212392

500g Lot.

4020408

BBL. Th Hemoglobin
Bovine, Freeze-Dried

Enriquecimiento para uso en la preparación de agar chocolate

- INSTRUCCIONES: Disuelva 10 g de hemoglobina por cada litro de medio deseado en Fi volumen de agua desmineralizada fría. Procesa en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Con la solución aún caliente, agregue Fi volumen de solución base de agar esteril (por ejemplo, base de agar 6C.) . Mezcle bien antes de verte en recipientes adecuados. Analice muestras del producto final para verificar su rendimiento usando cultivos de control típicos y estables.

Para uso de Laboratorio. Higroscopico. Mantener el envase bien cerrado.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *BBL. Th Hemoglobin Bovine, Freeze-Dried*. (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M144.pdf>

ANEXO N°8

AGAR MacConkey

Principio: Medio selectivo y diferencial para el cultivo de organismos coliformes, se ha recomendado este medio para la identificación de *Escherichia coli*. Lactosa monohidrato es la fuente de hidratos de carbono fermentables. La acción selectiva de este medio se atribuye al violeta cristal y sales biliares, que son inhibidores para la mayoría de las especies de bacterias gram-positivas. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico en el medio.

INSTRUCCIONES

Preparación:

- ✓ Suspender 49,53 gramos de medio deshidratado en 1000 ml / agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio por completo.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos
- ✓ Evitar el sobrecalentamiento enfriar a 45-50 °C. Mezclar bien antes de verter en placas de Petri.
- ✓ La superficie del medio debe estar seca cuando se inocula.
- ✓ Colocar el medio en cajas Petri estériles, tapar, esperar a que se enfríen, empacar y guardarlas en refrigeración con la tapa hacia abajo (4 ° C) hasta su utilización

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia** Rojo con tinte violáceo coloreado formas de gel transparente a ligeramente opalescente
- **La gelificación.** Comparable con 1,35% de agar gel.
- **El color y la claridad de medio preparado.** Rojo con tinte violáceo coloreado formas de gel transparente a ligeramente opalescente en placas de Petri.
- **pH** 6,90-7,30
- **Cajas Petri con Medio Agar Macconkey:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 cajas al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta como contaminación y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, las cajas están listas para su uso.

RESPUESTA DEL CULTIVO

Características culturales observadas con después de una incubación a 35-37 ° C durante 24-48 horas.

Organismo	Inóculo (CFU)	Crecimiento	Incubación
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	50-100/ UFC	Colonias color rosa rojo con precipitado de bilis.	30-35 C. 18-72 horas

Referencias.

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Columbia blood Agar base* (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M144.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

ANEXO N°9

MUELLER HINTON CALDO

Principio: 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.

INSTRUCCIONES:

Procedimiento

- ✓ Suspender el polvo en 1 litro de agua purificada: Difco™ Mueller Hinton Broth - 21 g; mezclar.
- ✓ Calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto para completamente disolver el polvo.
- ✓ Autoclave a 116-121 ° C durante 10-15 minutos (consulte producto etiqueta). No sobrecaliente .
- ✓ Compruebe preparó medio para asegurar el pH final es de 7,3 ± 0,1 a 25 ° C .
- ✓ Las muestras de ensayo del producto acabado para el rendimiento utilizando, cultivos de control típicos estables.

CONTROL DE CALIDAD

- **Polvo Apariencia:** Beige claro, de flujo libre, homogénea con algunas manchas oscuras.
- **Aspecto del medio preparado:**
Ambar muy claro, puede tener un ligero precipitar.
La reacción es de 2,1 %, pH 7,3 ± 0,1 (Calcio: 2.9 - 5.9 mg/L y agnesio:3.2 - 5.2 mg/L)

Resultados Esperados

Para la dilución de caldo de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, consulte referencias apropiadas para resultados. El crecimiento de microorganismos en medios de caldo se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular.

Referencias:

- Difco™ & BBL™ Manual, 2nd Edition. Mueller Hinton Broth (Not Cation-Adjusted). Recuperado de: [mhttps://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/275710.pdf](https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/275710.pdf)

ANEXO N°10

UREA AGAR BASE, CHRISTENSEN

Principio: Urea Agar detecta actividad de la ureasa por todos los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positiva y también por otros miembros de *Enterobacteriaceae* que exhiben una reacción de ureasa retardada. Esto se logra:

- la adición de glucosa al medio
- disminuyendo la concentración de peptona, y
- disminuir el sistema tampón, como un medio menos tamponada detecta incluso más pequeña cantidad de álcali.

INSTRUCCIONES

Preparación:

- ✓ Suspender 24,01 gramos en 950 ml de agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 10 libras de presión (115 ° C) durante 20 minutos.
- ✓ Enfriar a 50 ° C y añadir aseptícamente 50 ml de solución estéril 40% Urea y mezclar bien.
- ✓ Distribuir en tubos estériles, tapar y colocar en una posición inclinada (pico de flauta). Esperar a que se enfríen o solidifiquen, empacar y guardarlos en refrigeración (4°C) hasta su utilización. No sobrecalentar o recalentar el medio en forma de urea porque se descompone muy fácilmente.

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia:** Amarillo claro al polvo homogéneo de color rosa claro de flujo libre.
- **La gelificación:** Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar
- **El color y la claridad de medio preparado:**
Color naranja amarillento, formas de gel transparente a ligeramente opalescente en tubo sesgado.
- **Reacción:** La reacción de 2,4% w/v solución acuosa a 25 ° C. **pH:** 6,8 ± 0,2 (6,60-7,00)
- **Tubos con Medio de Urea:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 tubos al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que los tubos están contaminados y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, los tubos están listos para realizar las pruebas bioquímicas.

RESPUESTA DEL CULTIVO

Características culturales observados en la adición de Solución de Urea al 40% después de una incubación a 35-37 ° C durante 18-24 horas

Organismo	Inóculo(CFU)	Crecimiento	Actividad ureásica	Color del medio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50-100	Abundante, colonias pequeñas blanquecinas.	Negativo	Amarillo, sin cambio

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Lysine Iron Agar, Christensen* (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M377.pdf>
- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>

ANEXO N° 11

CITRATO AGAR SIMMONS

Principio: Este medio se fundamenta en el distinto comportamiento de los Coliformes fecales y los Aerógenos en un ambiente que contiene sales inorgánicas de amonio como única fuente de nitrógeno y citrato como única fuente de carbono. En tal situación los primeros muestran su incapacidad de desarrollo, mientras que los segundos lo hacen sin dificultad. La presencia de azul de bromotimol hace que el medio, inicialmente verde, pueda cambiar de color por la producción de álcali, a un azul oscuro.

INSTRUCCIONES

Procedimiento:

- ✓ Disolver 24,28 gramos en 1000 ml de agua destilada.
- ✓ calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos a 121 ° C.
- ✓ se distribuye en tubos de ensayo dejar enfriar en posición inclinada, dejando un fondo de 2-3 cm y una superficie inclinada de 4-5 cm

CONTROL DE CALIDAD

- **Polvo Apariencia:** Polvo amarillo, suave y fluido sin color.
- **Aspecto del medio preparado:**
- Gelificante Firme, comparable con un gel de agar al 1,5%. El color y el color verde bosque
- Claridad, ligeramente opalescente forma un gel en tubos.
- **Reacción:** La solución acuosa de reacción 2,43% tiene pH: $6,8 \pm 0,1$ a 25 ° C.
- **Tubos con Medio de Citrato:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 tubos al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que los tubos están contaminados y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, los tubos están listos para realizar las pruebas bioquímicas.

RESPUESTA DEL RESULTADO.

Características culturales, después de 18-24 horas a 35-37 ° C

Organismo	Crecimiento	La mitad de color	Utilización de citrato
<i>Escherichia coli</i> (AATC)	Inhibido	Verde	–
ATCC(25922)			Negativo

Interpretación: *Escherichia Coli* (negativo -)

Referencias.

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Citrato Aga Simmons* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com.br/produtos/detail.asp?iType=37&iPic=112>

ANEXO N°12

TRIPLE AZÚCAR HIERRO AGAR (TSI)

Principio: El digerido péptico de tejido animal, extracto de levadura y extracto de carne proporciona compuestos nitrogenados, azufre, oligoelementos y vitaminas del complejo B, etc. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. Lactosa, sacarosa y la glucosa son hidratos de carbono fermentables. Tiosulfato de sodio y los iones férricos o ferrosos hacen sistema de indicadores de H₂S. Rojo fenol es el indicador de pH.

INSTRUCCIONES

Preparación:

- ✓ Suspender 64,52 gramos en 1000 ml de agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente.
- ✓ Mezclar bien y distribuir en tubos de ensayo.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos.
- ✓ Distribuir en tubos estériles, tapar y colocar en una posición inclinada (pico de flauta). Esperar a que se enfrien o solidifiquen, empaçar y guardarlos en refrigeración (4 ° C) hasta su utilización.

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia:** Amarillo claro a rosa polvo fluido de color homogéneo.
- **Gelificación:** Firme, comparable con el 1,2% en gel de agar.
- **El color y la claridad de medio preparado**
Formas de color rojo rosado claro a ligeramente opalescente gel en tubos como sesgos.
- **Reacción:** La reacción de 6,45% w / v solución acuosa a 25°C. **pH:** 7,4 ± 0,2
- **Tubos con Medio de TSI:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 tubos al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que los tubos están contaminados y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, los tubos están listos para realizar las pruebas bioquímicas.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Triple Azúcar Hierro Agar* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/M021I.pdf>
- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

ANEXO N°13

AGAR SIM (Motilidad, Indol, sulfuro de hidrógeno)

Principio: SIM Medium permite la determinación de tres características por las cuales las bacterias entéricas pueden diferenciar. Hierro peptonizada y tiosulfato de sodio son los indicadores de producción de H₂S. Este H₂S reacciona con el hierro peptonizada para formar un precipitado negro de sulfuro ferroso, organismos móviles intensifican la reacción H₂S. Organismos móviles crecen lejos de la línea de inoculación mostrando difusa crecimiento mientras que los organismos no móviles crecen a lo largo del stabline. Detección de la motilidad es posible debido a la semisólido naturaleza del medio. Crecimiento que irradian desde el centro stabline indica que el organismo de ensayo es móvil. El triptófano, desde digerido péptico de tejido animal, se degrada por bacterias específicas para producir indol. El indol se detecta por la adición de reactivos químicos que siguen al período de incubación.

INSTRUCCIONES

Procedimiento:

- ✓ Suspender 36,23 gramos en 1000 ml de agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente.
- ✓ Distribuir en tubos. Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos.
- ✓ Permita que los tubos se enfríen en una posición vertical.

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia:** Crema a beige polvo fluido homogéneo
- **La gelificación:** Semisólido, comparable con el 0,3% en gel de agar.
- **El color y la claridad de medio preparado:**
Ámbar mediano de color forma un gel ligeramente opalescente en tubos.
- **Reacción.** La reacción de 3,6% w / v solución acuosa a 25 ° C. **pH:** 7,3 ± 0,2 (7,10-7,50)
- **Tubos con Medio de SIM:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 tubos al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que los tubos están contaminados y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, los tubos están listos para realizar las pruebas bioquímicas.

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.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *AGAR SIM (Motilidad, Indol, sulfuro de hidrógeno)* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/M021I.pdf>

ANEXO N°14

HIERRO AGAR Lisina (LIA)

Principio: Este medio es sensible para la detección de fermentación de lactosa de microorganismos que descarboxilan lisina rápidamente y puede producir grandes cantidades de sulfuro de hidrógeno, permite diferenciar especies fermentadoras y no fermentadoras. El digerido péptico y extracto de levadura proporcionan nutrientes esenciales; la dextrosa es una fuente de hidratos de carbono fermentable. Citrato de amonio férrico y tiosulfato de sodio son indicadores de la formación de H₂S.

INSTRUCCIONES

Preparación:

- ✓ Suspender 34,56 gramos en 1000 ml de agua destilada.
- ✓ Calentar hasta ebullición para disolver el medio completamente.
- ✓ Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 ° C) durante 15 minutos.
- ✓ Distribuir en tubos estériles, tapar y colocar en una posición inclinada (pico de flauta). Esperar a que se enfríen o solidifiquen, empacar y guardarlos en refrigeración (4 ° C) hasta su utilización.

CONTROL DE CALIDAD

- **Apariencia:** Amarillo claro a grisáceo polvo fluido homogéneo amarillo
- **Gelificación:** Firme, comparable con un 1,5% en gel de agar
- **El color y la claridad de medio preparado**
De color púrpura claro, 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 (6,50-6,90).
- **Tubos con Medio de Lisina:** A las 24 horas de guardar en refrigeración tomar de 2 a 4 tubos al azar y verificar si hay crecimiento bacteriano. Si existe crecimiento bacteriano se interpreta que los tubos están contaminados y por lo tanto no sirven para realizar la identificación de la bacteria. Si no hay crecimiento bacteriano, los tubos están listos para realizar las pruebas bioquímicas.

Referencia:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Urea Agar Base, Christensen* (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M112I.pdf>
- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de: http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

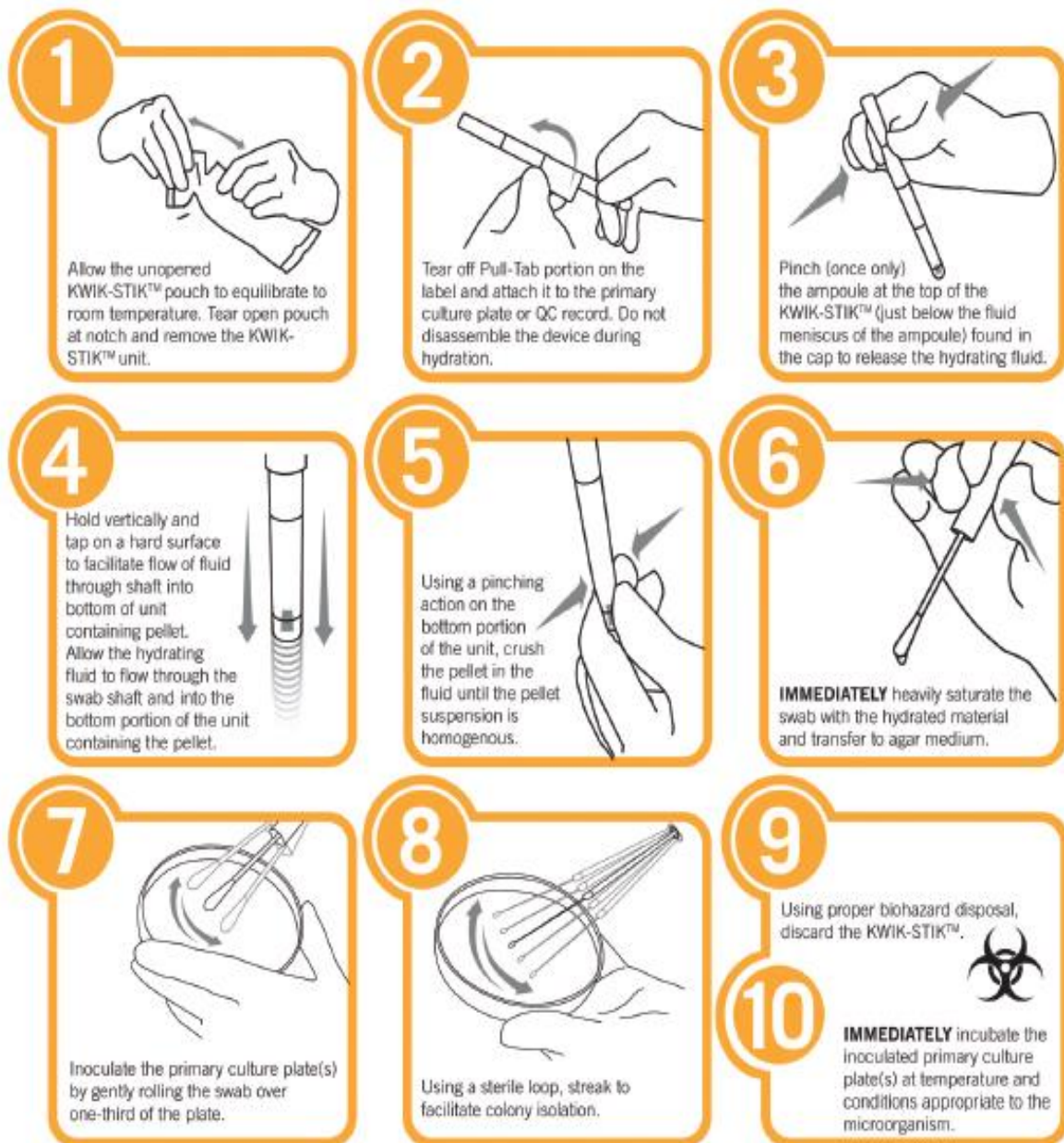
CEPA CONTROL E. COLI ATCC 25922

RECONSTITUCION DE LA BACTERIA



Referencias:

- **Medibac.** Av. República del Ecuador N34399 e Irlanda. Disponible en: lcantos@medibac.com www.medibac.com
- Y. Obara, S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.



Microbiologics®
A safer, healthier world.

Referencias:

- **Medibac.** Av. República del Ecuador N34399 e Irlanda. Disponible en: lcantos@medibac.com www.medibac.com
- Y. Obara, S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.

RECONSTITUCION DE LA CEPA E.COLI ATCC 25922

- 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.

CRIOCONSERVACION DE E.COLI ATCC 25922

- Luego de reconstituida la cepa se colocó 1ml de Glicerina al 50%(conservante) y 1ml de la cepa control.
- Se mezcló e inmediatamente se llevó a una refrigeradora a -80°C para su posterior uso.

Referencias:

- **Medibac.** Av. República del Ecuador N34399 e Irlanda. Disponible en: lcantos@medibac.com www.medibac.com
- Y. Obara, S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.

VALIDACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD

Este procedimiento se lleva a cabo cada vez que se prepara un lote de medio de cultivo antes de su uso rutinario. Para ello:

- Se debe medir el pH de cada lote preparado.
- Se realiza con papel pH o pH-metro.
- Rango aceptable pH 7.2 – 7.4.

1. Control de Esterilidad de Cada lote:

- ✓ Cada vez que se prepara el medio de cultivo incubar el 100% de estos o una cantidad representativa de cajas al azar del lote preparado.
- ✓ Incubar a 37°C por 24 horas.
- ✓ A las 24 horas se observa en cada una de las cajas si hay o no crecimiento bacteriano. El criterio de aceptación es que no debe haber crecimiento, sí se presenta desarrollo en alguna caja se rechaza el lote y se preparan nuevamente.

Este control permite demostrar que:

1. El medio es estéril antes de su inoculación.
2. Se desarrollan o inhiben los microorganismos.
3. Cumplen con criterios físicos y químicos de aceptación dados por el NCCLS (M22-T).

2. Pruebas de funcionalidad de medios de cultivo

Para evaluar los medios de cultivo se usa una cepa de referencia apropiada (Cepa Control ATCC) para medir la capacidad de crecimiento y de reacción, cuyo comportamiento para reacciones positivas y negativas ya es conocido de acuerdo a lo establecido en la norma ISO/TS 11133-2:2000. A partir de la cepa de trabajo se prepara un cultivo; y:

- ✓ De los viales de crioconservación, se inocula una suspensión de microorganismo de cepa control ATCC 25922 *e. coli* en agar sangre, maCconkey y en pruebas bioquímicas.
- ✓ Incubar a 37 °C por 24 a 48 horas.
- ✓ A las 24 horas se evalúa el desarrollo del microorganismo; es decir, si la cepa control ya conocida a crecido o no en los diferentes medios; y, si ha producido su cambio de color característico.
- ✓ Si el medio de cultivo es conforme, se espera que haya o no reacción en los tubos inoculados y el lote de medio se acepta.

Medio de cultivo, organismo control reacción esperada:

La reacción que debe producir la cepa ATCC 25922 *e.coli* en el control de calidad de las diferentes pruebas es:

- Agar Sangre: Colonias blancas, cremosas, definidas.
- Agar MacConkey: Colonias rosadas-rojas (Lactosa positiva)
- TSI: ácido/ácido (amarillo)
- CIT: color verde, no hay crecimiento.
- Urea: color naranja, negativo.
- LIA: color lila, positivo
- SIM: amarillo, indol positivo, ácido sulfhídrico negativo

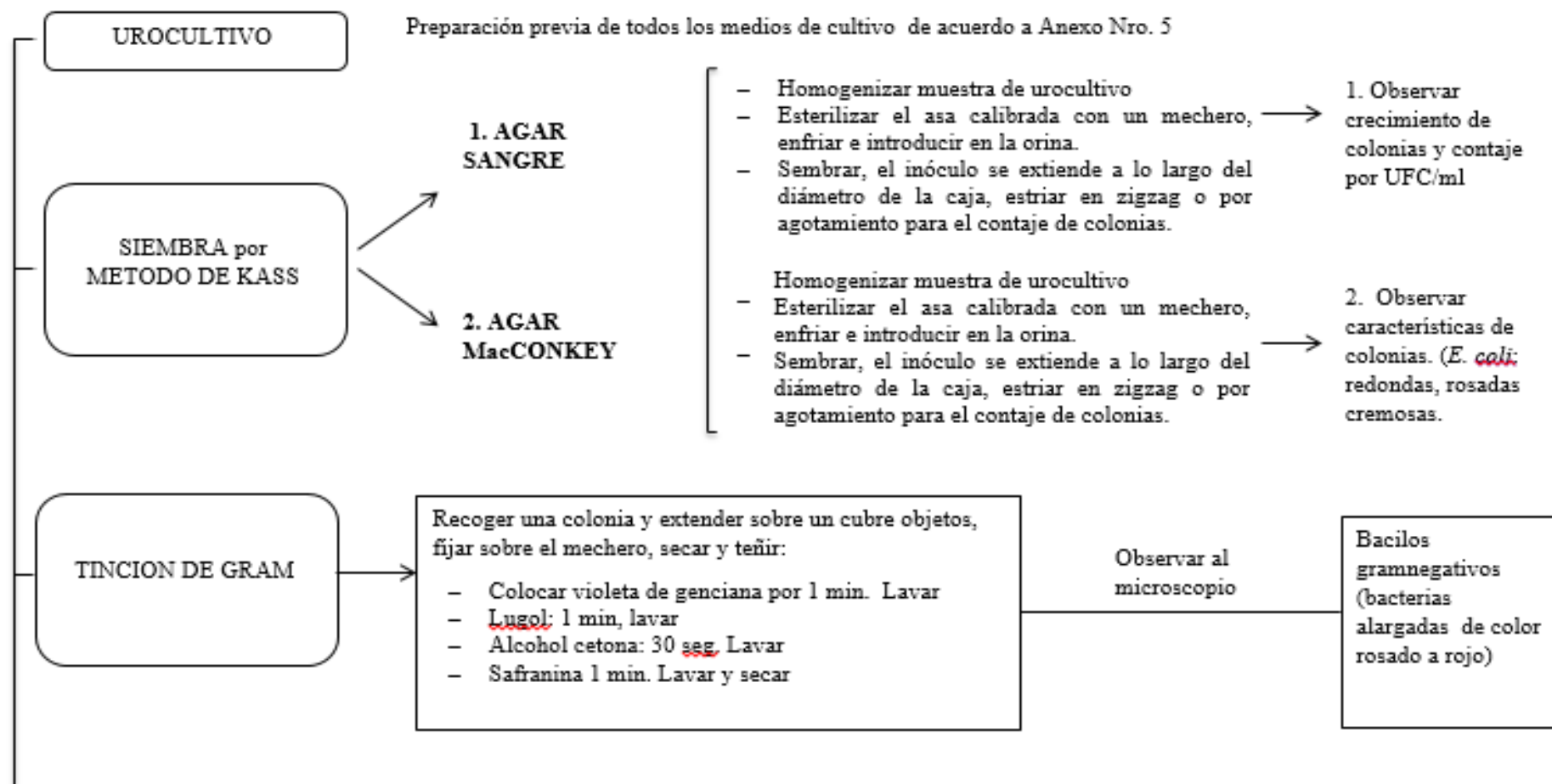
- ✓ En general los medios preparados se guardan a 4° C, no más de tres meses . Colocar los de más reciente preparación al fondo y los mas viejos adelante.
- ✓ Se Rotulan todos los medios preparados, tanto en platos Petri como en tubos, indicando además, la fecha de preparación y expiración.

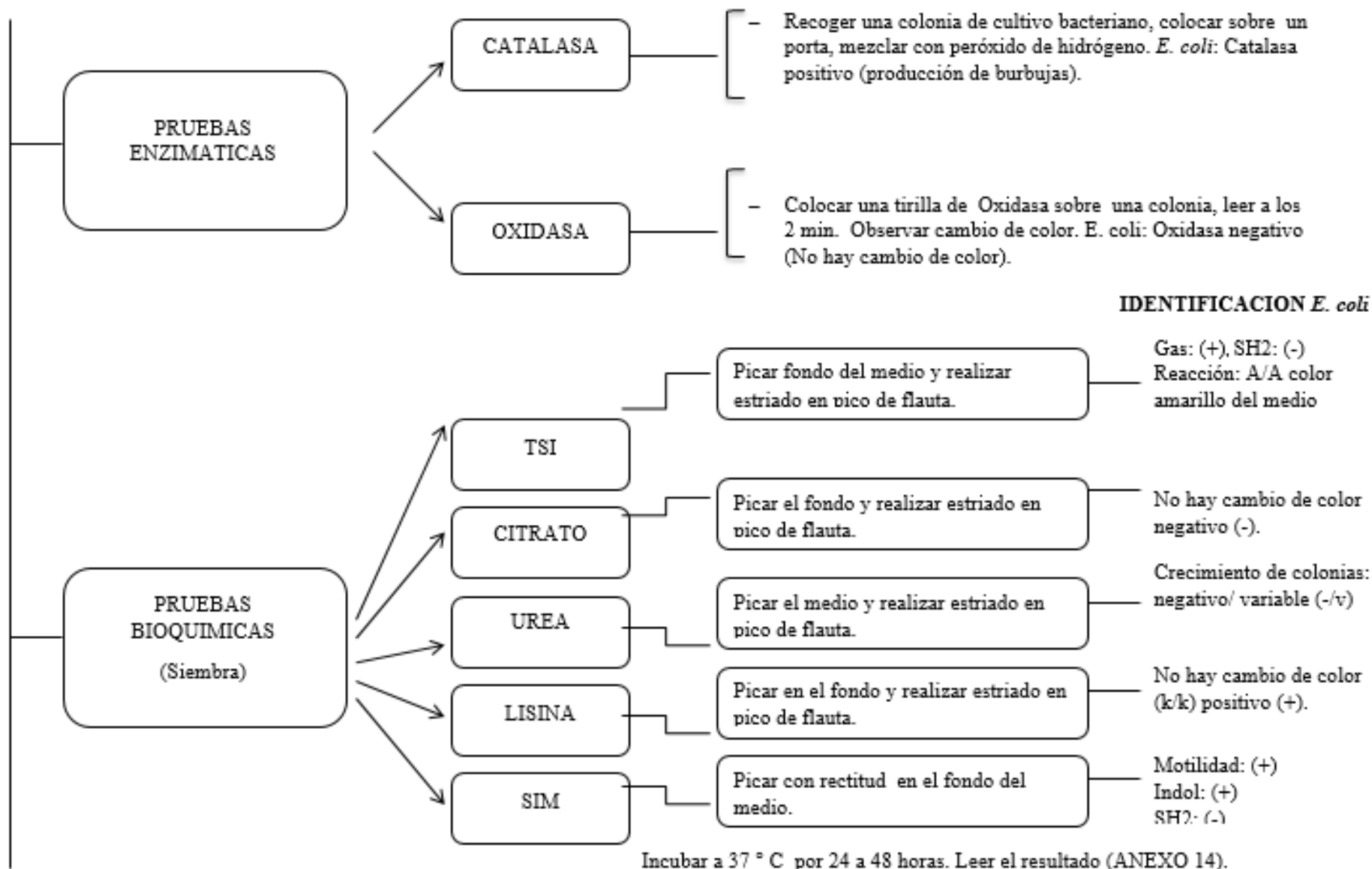
NOTA: El control de Calidad se realizó semanalmente. Todas las cajas de los medios de cultivo preparadas sometidas al control de calidad se eliminaron, independientemente de que desarrollen o no crecimiento bacteriano y se realizaron otras siguiendo el mismo procedimiento de control de calidad.

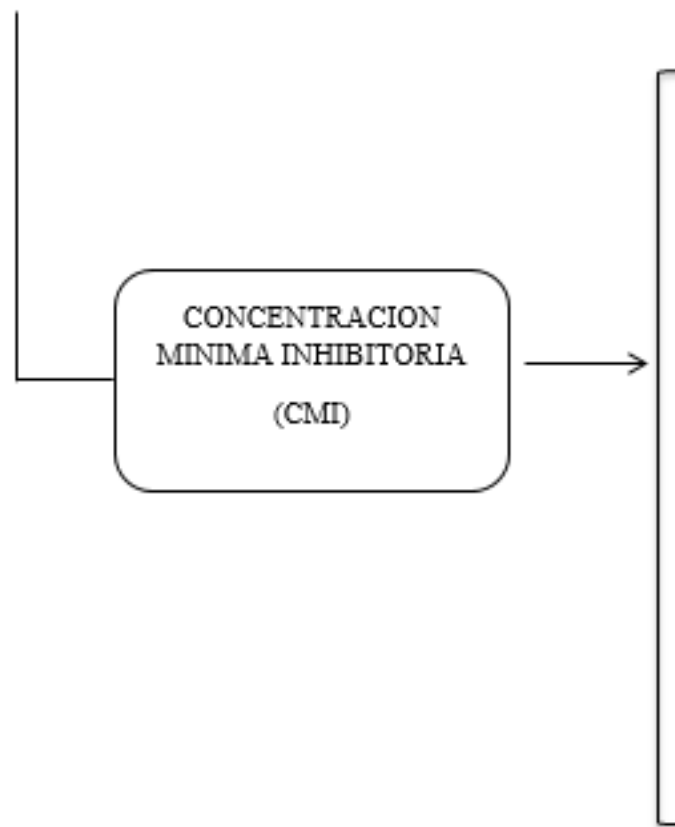
REFERENCIAS:

1. Méndez, M.; Quintos, M. & Herrera, A. et al. (2011). *Control de Calidad de Medios de Cultivo*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. Instituto Politécnico Nacional. Sigma 119. Fraccionamiento 20 de Noviembre II Durango, Dgo. C.P. 34 220. Becarios COFAA. Recuperado de: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8164/Maricela%20Esteba%20et%20al.%20calidad%20medios%20cultivo.pdf?sequence=1>
2. Prat, M. & Yáñez, M. (2009). *Procedimiento Control de Calidad Interno Analitos Cualitativos del Area de Bacteriología*. Subdepto Microbiología Clínica Sección Bacteriología. Chile. Recuperado de: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/PR%20CCI%20Bacteriolog%C3%ADa.pdf>

PRUEBA PILOTO (Ensayo del Proceso del muestreo en la investigación)







1. Preparación de la solución madre de antibiótico CEFUROXIMA

- Tubos con 1 ml de caldo Mueller Hinton + antibiótico de acuerdo a las diluciones seriadas dobles (primer tubo: 256 ug/ml, 128, 64,32 etc.).
Esquema de diluciones **TABLA 1**
- Colocar 1 ml de suspensión bacteriana al 0.5 de escala de McFarland e incubar 24/48 horas.
- Ver crecimiento en tubos, sembrar en placas e incubar.
- Leer resultados e interpretar la CMI de acuerdo al Patrón que establece la NCLSI M100-S25:
 - SENSIBLE: <8 ug/ml
 - INTERMEDIO: 16 ug/ml
 - RESISTENTE: >32 ug/ml

NOTA: Todos los procedimientos se realizaron por triplicado.

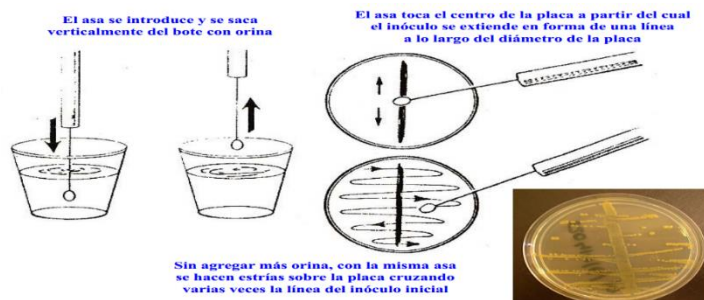
ANEXO N°18

MÈTODO DE KASS

UROCULTIVO

Para realizar un cultivo de orina se requieren medios selectivos y no selectivos. Casi siempre es suficiente una combinación de agar Sangre de carnero al 5% y agar MacConkey medio selectivo para identificación de enterobacterias y otros bacilos gram negativos. El procedimiento para realizar la siembra de una muestra de orina es el mismo en los distintos medios de cultivo selectivo y no selectivo:

1. Se homogeneiza bien la muestra.
2. Se esteriliza el asa en el mechero o se saca una nueva asa de su estuche.
3. Se espera unos segundos hasta que el asa este completamente fría
4. Se introduce el asa y se obtiene una porción de orina con el asa calibrada
5. Se procede a realizar la siembra dentro de una Cabina de Seguridad Biológica:
6. Primero sembramos en el medio básico Agar Sangre y se realiza picaduras en la zona de estriado para observar si hay o no hemólisis,
7. Luego sembramos de la misma manera con el asa calibrada en Agar MacConkey medio diferencial.
8. Procedemos a incubar las cajas Petri previamente rotuladas en la base. Durante 24-48horas.
9. Se reporta los resultados según el crecimiento a las 24 o 48 horas.



RESULTADOS

- Una bacteriuria igual o inferior a 1.000 UFC/ml se corresponde con un cultivo negativo o ausencia de IVU.
- La bacteriuria comprendida entre 1.000 y 10.000 UFC/ml se considera que no tiene significado patológico y señala una simple contaminación en el acto de la micción, sobretodo se el cultivo contiene flora mixta. No debe olvidarse, sin embargo que todas las bacteriurias atravieesan este estado al iniciarse o al retroceder en intensidad y que algunos microorganismos como Staphylococcus y Candida deben valorarse con recuentos bajos
- Entre 10.000 y 10.000 UFC/ml de un único microorganismo existe clara sospecha de IVU y hay que valorar cada paso por separado.

Referencia:

1. Koneman, E.; Allen, S. et al. (2006). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina- Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. 6ª Edición. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&dq=koneman+diagnostico+microbiologico&hl=es&sa=X&ei=_xyUVdCyBozsqH6mK9A&sqi=2&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=koneman%20diagnostico%20microbiologico&f=false
2. Grcia, P. Fernandez, M. Microbiología clínica aplicada.

TINCION DE GRAM

1. Un extendido fijado al calor se cubre con un colorante violeta básico, por lo general violeta de genciana. Como el colorante violeta imparte su color a todas las células se lo denomina colorante primario.
2. Después de un breve lapso, se escurre el colorante violeta, se lava el extendido y se lo cubre con yodo un mordiente. Cuando se lava el yodo tanto las bacterias gram positivas como las gram negativas aparecen de color violeta oscuro o purpura
3. A continuación se lava el portaobjetos con alcohol o con una solución de alcohol-acetona. Esta solución es un agente decolorante que elimina el color violeta de las células de algunas especies pero no de otras.
4. Se elimina el alcohol con agua y se tiñe el portaobjetos con safranina un colorante básico. Luego se vuelve a lavar el extendido, se lo seca con papel absorbente y se lo examina con el microscopio.

Referencias

- Forbes, B. (2009). *Bailey & Scott: Diagnostico Microbiologico*. 12 Edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

PRUEBA DE OXIDASA

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.

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

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.

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.

Microorganismos

Reaccion

Escherichia coli
ATCC ® 25922

Oxidase-negative; no color develops

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

Referencias:

- OXISTRIPS™ TIRAS DE OXIDASA Y OXISTICKS™ COTONETES DE OXIDASA. Recuperado de: https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/product/z93-oxistrips-oxidase-test-25-paper-strips-per-package-by-hardy-diagnostics-test-disks-strips-reagents

PRUEBA DE CATALASA

La enzima catalasa cataliza la liberación de agua y oxígeno a partir del peróxido de hidrogeno ($H_2O_2 + \text{catalasa} = H_2O + O_2$); su presencia se determina por análisis directo de un cultivo bacteriano. La producción rápida de burbujas (efervescencia) cuando el cultivo bacteriano se mezcla con una solución de peróxido de hidrógeno se interpreta como una prueba positiva (es decir, presencia de catalasa). Si no se produce efervescencia o ésta es débil la prueba se interpreta como negativa. Si el inóculo bacteriano se contamina accidentalmente con eritrocitos cuando se recolecta de una placa de agar con sangre de carnero puede haber una producción débil de burbujas pero esto no debe interpretarse como una prueba positiva.

Referencias

- Forbes, B. (2009). *Bailey & Scott: Diagnostico Microbiologico*. 12 Edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. Recuperado de: https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gs_b_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

ANEXO N°22

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA CITRATO AGAR SIMMONS

Principio: Este medio se fundamenta en el distinto comportamiento de los Coliformes fecales y los Aerógenos en un ambiente que contiene sales inorgánicas de amonio como única fuente de nitrógeno y citrato como única fuente de carbono. En tal situación los primeros muestran su incapacidad de desarrollo, mientras que los segundos lo hacen sin dificultad. La presencia de azul de bromotimol hace que el medio, inicialmente verde, pueda cambiar de color por la producción de álcali, a un azul oscuro.

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

- ✓ Retirar los tubos de ensayo con medio de Citrato en refrigeración e incubar 37 ° C.
- ✓ En una cámara de bioseguridad se hace todo el procedimiento; rotular tubos.
- ✓ Esterilizar el asa metálica recta en punta; prender el mechero, tomar el asa bacteriológica por el mango y colocarla en posición vertical sobre la llama hasta que el alambre quede al rojo vivo. Destapar los tubos y flamear. Dejar enfriar el asa y recoger de 1 a 2 colonias aisladas de la caja Petri con crecimiento de bacterias.

Siembra por estría:

- ✓ En superficie inclinada se introduce el asa en el tubo que contiene el medio, se desliza el asa en movimiento de zig-zag (en pico de flauta). Se tapan los tubos en los que se ha realizado la siembra, esterilizar el asa e incubarlos a una temperatura de 35 a 37° C por 24 horas. Observar si existe crecimiento bacteriano.

RESPUESTA DEL RESULTADO.

Características culturales, después de 18-24 horas a 35-37 ° C

Organismo	Crecimiento	La mitad de color	Utilización de citrato
<i>Escherichia coli</i> (AATC) ATCC(25922)	Inhibido	Verde	- Negativo

Interpretación: *Escherichia Coli* (negativo -)

Referencias.

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Citrato Aga Simmons* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com.br/produtos/detail.asp?iType=37&iPic=112>

ANEXO N°23

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA UREA AGAR BASE, CHRISTENSEN

Principio: Urea Agar detecta actividad de la ureasa por todos los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positiva y también por otros miembros de *Enterobacteriaceae* que exhiben una reacción de ureasa retardada. Esto se logra:

- d) la adición de glucosa al medio
- e) disminuyendo la concentración de peptona, y
- f) disminuir el sistema tampón, como un medio menos tamponada detecta incluso más pequeña cantidad de álcali.

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

- ✓ Retirar los tubos de ensayo con medio de úrea en refrigeración e incubar 37 ° C.
- ✓ En una cámara de bioseguridad se hace todo el procedimiento; rotular tubos.
- ✓ Esterilizar el asa metálica recta en punta; prender el mechero, tomar el asa bacteriológica por el mango y colocarla en posición vertical sobre la llama hasta que el alambre quede al rojo vivo.
- ✓ Destapar los tubos, flamear. Dejar enfriar el asa y recoger de 1 a 2 colonias aisladas de la caja Petri

Siembra por estría:

- ✓ En superficie inclinada se introduce el asa en el tubo que contiene el medio; desde el fondo y en progresión ascendente se desliza el asa en movimiento de zig-zag (se estría).
- ✓ Se tapan los tubos en los que se ha realizado la siembra, esterilizar el asa e incubarlos a una temperatura de 35 a 37° C por 24 horas.
- ✓ Retirar los tubos y observar si existe crecimiento bacteriano.

Interpretación

Observar actividad ureásica y cambio de color del medio. Bacterias que hidrolizan lentamente la urea, como ser *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*, viran al color rojo-rosado de todo el medio de cultivo.

- **Urea positivo:** aparece un color rojo. La bacteria produce ureasa. Ej: En las especies de *Proteus* el medio se alcaliniza poco después de la inoculación, por lo tanto sus resultados deben ser leídos en las primeras 2-6 horas, mientras que *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* tienen actividad ureasa dentro de las 24-48 horas de incubación.
- **Urea negativo:** el medio permanece amarillo. La bacteria no posee ni produce la enzima ureasa. Ej: *Escherichia coli* y *Shigella* Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Lysine Iron Agar, Christensen* (2011). Recuperado de: <http://himedialabs.com/TD/M377.pdf>
- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA TRIPLE AZÚCAR HIERRO AGAR (TSI)

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

- ✓ Retirar los tubos de ensayo con medio de TSI en refrigeración e incubar 37 ° C.
- ✓ En una cámara de bioseguridad se hace todo el procedimiento; rotular tubos.
- ✓ Esterilizar el asa metálica recta en punta; prender el mechero, tomar el asa bacteriológica por el mango y colocarla en posición vertical sobre la llama hasta que el alambre quede al rojo vivo.
- ✓ Destapar los tubos y flamear. Dejar enfriar el asa y recoger de 1 a 2 colonias aisladas de la caja Petri con crecimiento de bacterias.

Siembra por estría:

- ✓ En superficie inclinada se introduce el asa en el tubo que contiene el medio; desde el fondo y en progresión ascendente se desliza el asa en movimiento de zig-zag (Se pica en el fondo y se estría).
- ✓ Se tapan los tubos en los que se ha realizado la siembra, esterilizar el asa e incubarlos a una temperatura de 35 a 37° C por 24 horas.
- ✓ Retirar los tubos y observar si existe crecimiento bacteriano.

Interpretación

Los organismos que fermentan la glucosa producen una variedad de ácidos, girando el color del medio de rojo a amarillo. Más cantidad de los ácidos se liberan en el fondo (fermentación) que en la inclinación (respiración). Bacterias que crecen también forman productos alcalinos de la descarboxilación oxidativa de peptona y estos productos alcalinos neutralizan las grandes cantidades de ácido presente en el fondo. Así:

- La aparición de un alcalino (rojo) de inclinación y un ácido (amarillo) a tope después de la incubación indica que el organismo es fermentador de glucosa pero es incapaz de fermentar la lactosa y / o sacarosa.
- Las bacterias que fermentan 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 de ácido y tope ácido.
- La producción de gas (CO₂) se detecta por la presencia de grietas o burbujas en el medio, cuando el acumulado tiene 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. La reducción de tiosulfato procede sólo en un ambiente con medio ácido y el ennegrecimiento ocurre generalmente en el extremo del tubo.

A: Reacción acida. Color amarillo

K: Reacción alcalina. Color rojo naranja.

K/A: Fermentación de glucosa, No producción de gas.

A/A: Fermentación de glucosa y sacarosa o glucosa y la lactosa; fermentación de todos los tres azúcares, glucosa, lactosa y sacarosa fermentado.

Burbujas o grietas presentes: Producción de gas

Negro presente: Precipitado H₂S producción de gas.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Triple Azúcar Hierro Agar* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/M021I.pdf>
- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIANA%20I%2014.pdf

ANEXO N°25

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA HIERRO AGAR Lisina (LIA)

Principio: Este medio es sensible para la detección de fermentación de lactosa de microorganismos que descarboxilan lisina rápidamente y puede producir grandes cantidades de sulfuro de hidrógeno, permite diferenciar especies fermentadoras y no fermentadoras. El digerido péptico y extracto de levadura proporcionan nutrientes esenciales; la dextrosa es una fuente de hidratos de carbono fermentable. Citrato de amonio férrico y tiosulfato de sodio son indicadores de la formación de H₂S. .

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

- ✓ Retirar los tubos de ensayo con medio de Lisina en refrigeración e incubar 37 ° C.
- ✓ En una cámara de bioseguridad se hace todo el procedimiento; rotular tubos.
- ✓ Esterilizar el asa metálica recta en punta; prender el mechero, tomar el asa bacteriológica por el mango y colocarla en posición vertical sobre la llama hasta que el alambre quede al rojo vivo.
- ✓ Destapar los tubos y flamear. Dejar enfriar el asa y recoger de 1 a 2 colonias aisladas de la caja Petri con crecimiento de bacterias.

Siembra por estría:

- ✓ En superficie inclinada se introduce el asa en el tubo que contiene el medio; desde el fondo y en progresión ascendente se desliza el asa en movimiento de zig-zag (Se estría).
- ✓ Se tapan los tubos en los que se ha realizado la siembra, esterilizar el asa e incubarlos a una temperatura de 35 a 37° C por 24 horas.
- ✓ Retirar los tubos y observar si existe crecimiento bacteriano.

Interpretación

Los cultivos que producen sulfuro de hidrógeno pueden causar ennegrecimiento del medio debido a la producción de sulfuro ferroso. La Descarboxilación de lisina causa una reacción alcalina (color púrpura) para dar el cadaverina amina y los organismos que no descarboxilan lisina pueden producir tope ácido (color amarillo). Los organismos que desaminan lisina, forma ácido alfa - cetocarboxílico, que reacciona con la sal de hierro cerca de la superficie del medio bajo la influencia del oxígeno para formar el compuesto de color rojizo-marrón. El medio es apuñalado hasta la base de la culata y veteado en inclinación

A: Reacción acida. Color amarillo

K: Reacción alcalina. Color violeta

R: Reacción alcalina: color rojo

K/K: Descarboxilación lisina

K/A: Fermentación glucosa. Descarboxilación lisina

R/A? Desaminación lisina. Fermentación glucosa.

Referencia:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *Urea Agar Base, Christensen* (2011). Recuperado de:

<http://himedialabs.com/TD/M112I.pdf>
www.medibac.com

- López, L., & Torres, C., (2006). *Identificación de Bacterias*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias Microbiología General- Carrera Farmacia. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>
- Bernal, M. (2014). *Identificación Bacteriana*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Microbiología, Bogotá, Colombia. Recuperado de http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/microbiologia/Docs/W_IDENTIFICACION_BACTERIA_NA%20I%2014.pdf

ANEXO N°26

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA AGAR SIM (Motilidad, Indol, sulfuro de hidrógeno)

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

- ✓ Retirar los tubos de ensayo con medio de Lisina en refrigeración e incubar 37 ° C.
- ✓ En una cámara de bioseguridad se hace todo el procedimiento; rotular tubos.
- ✓ Esterilizar el asa metálica recta en punta; prender el mechero, tomar el asa bacteriológica por el mango y colocarla en posición vertical sobre la llama hasta que el alambre quede al rojo vivo. Destapar los tubos y flamear. Dejar enfriar el asa y recoger de 1 a 2 colonias aisladas de la caja Petri con crecimiento de bacterias.

Siembra por estría:

- ✓ Sembrar por punción única en la región central del tubo, utilizando un aguja recta hasta una profundidad de 2/3 del medio. Se tapan los tubos en los que se ha realizado la siembra, esterilizar el asa e incubarlos a una temperatura de a 37° C por 24 horas.
- ✓ Agregar 2 ó 3 gotas del reactivo de Kovacs para detección del indol.

Interpretación de resultados:

1. **Sulfuro de hidrógeno:** negativo reacción, no se observa ennegrecimiento. La bacteria no produce sulfuro. Ejm. *E. coli*.
2. **Indol:** Prueba positiva: color rojo fucsia en la interface del reactivo y el medio. Este reactivo contiene p-dimetilaminobenzaldehído que forma un complejo de color rojo con el indol.
3. **Movilidad:** Prueba positiva: Se visualiza turbidez parcial del 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.

Referencias:

- HiMedia Laboratories. Technical Data. *AGAR SIM (Motilidad, Indol, sulfuro de hidrógeno)* (2011). Recuperado de: <http://www.himedialabs.com/TD/M021I.pdf>

TÉCNICA DE MACRODILUCIÓN EN CALDO

1. Preparar cultivos de 18 horas de las bacterias a estudiar en Agar Mueller Hinton.
2. Inocular una porción de una colonia aislada en 2mL de caldo Mueller Hinton e incubar en un baño a 37°C hasta que la turbidez sea visible (2-5h). Ajustar la turbidez con la solución salina o caldo de cultivo estéril hasta una turbidez equivalente al estándar 0,5 de la escala de McFarland aproximadamente 108 UFC/ml.
3. Preparar 11 tubos con 1ml de caldo Mueller-Hinton y 1 con 2 ml. preparar una solución madre de antibiótico a una concentración de 2048ug/ml equivalente (100ul) TABLA 1.
4. Añadir 100ul de la solución madre de antibiótico al tubo que contiene 2ml de caldo Mueller-Hinton (concentración de antibiótico de este tubo= 512ug/ml). A partir de este tubo, preparar diluciones dobles seriadas tomando 1ml del primer tubo (1024ug/ml) y transfiriéndolo al segundo (la concentración de antibiótico de este tubo será de 512ug/ml). Después de mezclar bien todo el contenido del segundo tubo, transferir 1ml al tercer tubo (256ug/ml) y así sucesivamente hasta el tubo 12, de cual se toma 1ml y se descarta. De esta manera habremos obtenido diluciones dobles del antibiótico desde 1024ug/ml hasta 0,5ug/ml
5. Añadir a cada tubo con antibiótico 1ml del inóculo preparado en el punto 3 que contiene aproximadamente 10⁶ UFC/ml. esto supone un inóculo final aproximado de 5x10⁵ UFC/ml. Las concentraciones finales de antibiótico serán ahora de 512ug/ml hasta 0,25ug/ml. TABLA 2.
6. Añadir 1ml del inóculo a un tubo de la primera serie denominado C1R1 (Control:1, Repetición:1) con 1ml de caldo de cultivo y sin antibiótico: CONTROL NEGATIVO.
7. Anadir 900ml de Caldo de Cultivo con 1000 ul del inoculo bacteriano y 100ul de cloroformo: CONTROL POSITIVO
8. Incubar los tubos de las diluciones durante 18 horas a 37°C. al día siguiente leer los resultados y calcular la CMI.
9. A partir de cada uno de los tubos sin desarrollo bacteriano inocular una placa de agar MacConkey, incubar las placas 18 horas a 37°C. contar el número de colonias en las placas para la determinación de la CMB.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- Se considera CMI como la concentración correspondiente al tubo con menor concentración de antibiótico donde no ha habido desarrollo bacteriano, demostrado por la presencia de turbidez.
- Los resultados de la CMI pueden ser interpretados en las categorías de sensible, intermedio o resistente de acuerdo a la tabla 1

- Se considera CMB como la menor concentración de antibiótico cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0,1% del inóculo original.

BIBLIOGRAFÍA:

Manual Práctico de Microbiología. 3ra edición. Carlos Gamazo. Ignacio Lopez-Goñi, Ramon Díaz. MASSON.

Interpretación de Concentración Mínima Inhibitoria para Enterobacterias.

TABLA N°1.

	MIC INTERPRETATIVE CRITERIA			
	(ug/mL)			
	S	SDD	I	R
CEFUROXIME (parenteral)	<8		16	>32

Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S25

S: Susceptible

I: Intermedio

R: Resistente

CÁLCULO DE SOLUCIÓN MADRE:

$$750 \text{ mg} / 3 \text{ ml} \rightarrow 250 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{array}{r} 250.000 \text{ ug} \\ X \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ ul} \\ 320 \text{ ul AB} + 2180 \text{ ul CMH} = 2500 \text{ ul AB1} \end{array}$$

$$X = 80.000 \text{ ug}$$

$$\begin{array}{r} 80.000 \text{ ug} \\ 2048 \text{ ug} \end{array} \quad \begin{array}{r} 2500 \text{ ul} \\ X \end{array}$$

$$X = 64 \text{ NO, sino } 640 \text{ AB1} + 360 \text{ CMH} = 1000 \text{ ul AB2}$$

$$20480 \text{ ug} \quad \text{-----} \quad 640 \text{ ul} + 360 \text{ CMH} = 1000 \text{ ul AB2}$$

$$20480 \text{ ug S.M} \leftarrow \text{EQUIVALENTE A} \rightarrow 1000 \text{ ul AB2}$$

$$2048 \text{ ug S.M} \leftarrow \text{EQUIVALENTE A} \rightarrow 100 \text{ ul AB2}$$

ABREVIATURAS:

AB: Antibiótico

CMH: Caldo Mueller-Hinton

AB1: Antibiótico solución 1

AB2: Antibiótico solución 2, solución madre final.

TABLA 2.

ESQUEMA DE DILUCIONES.

Nº CAB	T1 512 ug/ml	T2 256 ug/ml	T3 128 ug/ml	T4 64 ug/ml	T5 32 ug/ml	T6 16 ug/ml	T7 8 ug/ml
CMH	1.900ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul
AB	100ul						
TA	<i>Pasa 1000ul →</i>	1000ul →	1000ul →	1000ul →	1000ul →	1000ul →	1000ul →
Dilución VF	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
IB	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul
Solución VF	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml

Nº CAB	T8 4 ug/ml	T9 2 ug/ml	T10 1 ug/ml	T11 0.5 ug/ml	T12 0.25 ug/ml	C+	C-
CMH	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	900ul	1000ul
AB						<i>100ul CLF.</i>	
TA	1000ul →	1000ul →	1000ul →	1000ul →	1000ul →		
Dilución VF	1ml	1ml	1ml	1ml	<i>Desecha 1000ul Queda 1000ul</i>	1ml	1ml
IB	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul	1000ul
Solución VF	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml

ABREVIATURAS:

CAB: Concentración de Antibiótico

CMH: Caldo Muelle-Hinton

AB: Antibiótico

TA: solución del Tubo Anterior

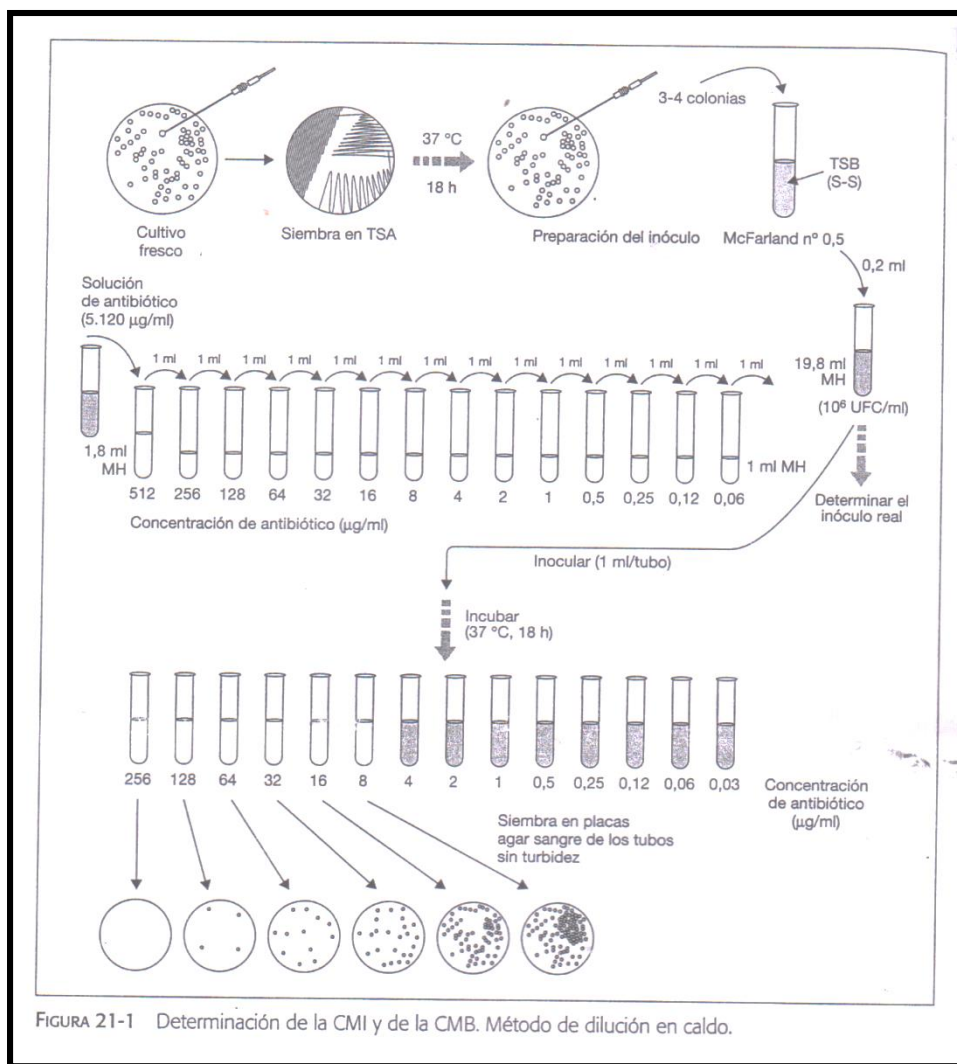
Dilución VF: Volumen Final de dilución

CLF: Cloroformo

IB: Inóculo Bacteriano

ESQUEMA GRÁFICO DE DILUCIONES

Para la dilución de caldo de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, consulte referencias apropiadas para resultados. El crecimiento de microorganismos en medios de caldo se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular.



Referencias:

- Difco™ & BBL™ Manual, 2nd Edition. Mueller Hinton Broth (Not Cation-Adjusted). Recuperado de: [mhttps://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/275710.pdf](https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/275710.pdf)

PRUEBAS REGISTRO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS




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

FECHA: 30-03-2015

N°	NOMBRE:	MEDIOS DE CRECIMIENTO			PRUEBAS BIOQUÍMICAS											MICROORGANISMO AISLADO		
		AGAR MACCONKEY	AGAR SANGRE	GRAM	CAT.	OXI.	CITRATO	SIM			UREA	LISINA	TSI					
								MOT.	INDOL	SH2			GAS	SH2	INCL.		PROF.	
4	RUIZ PAQUITA	NO HUBO CRECIMIENTO	24/48 HORAS															
3	JAIME TULCAN	NO HUBO CRECIMIENTO	24/48 HORAS															
15	VELEZ ISMELDA	Colonias rosadas brillantes, cremosas > 100.000 UFC	Colonias blancas cremosas, definidas > 100.000 UFC	Bacilo Negativo	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	A	A	ESCHERICHIA COLI	
23	YAGUACHE GLORIA	Colonias rosadas pequeñas > 100.000 UFC	Colonias blancas, paucibacilares > 100.000 UFC	Bacilo Negativo	+	-	+/-	+	-	+	+	-/-	-	+/-	A	A	PROTEUS VULGARIS	

FIRMA DEL JEFE DEL LABORATORIO

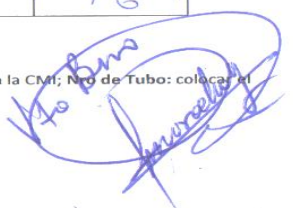
REGISTRO DE RESULTADOS
CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA



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


	CEFUROXIMA CMI													TC+ ug/ml	CEFUROXIMA CMB			
	TG-	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12		Macconkey	Tubo. Nro	ug/ml	
17																		
05-05-15		512 ug/ml	256 ug/ml	128 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					
NOMBRE:	CABRERA MALLA SANDRO ELIZA														CMI = T5 → 3200/ml			
Muestra N°:	R1	X					CMI CMB	X	X	X	X	X	X	X	X	NO	5	32
	R2	X					CMI CMB	X	X	X	X	X	X	X	X	NO	5	32
24	R3	X					CMI CMB	X	X	X	X	X	X	X	X	NO	5	32
NOMBRE:	VALLE FLORES CARMEN ROMINA														CMI = T4 → 6400/ml			
Muestra N°:	R1	X					CMI CMB				X	X	X	X	X	NO	4	64
	R2	X					CMI CMB				X	X	X	X	X	NO	4	64
17	R3	X					CMI CMB				X	X	X	X	X	NO	4	64
NOMBRE:	AMALIA GUBLIN														CMI = T7 → 800/ml			
M	R1	X					CMB	CMI	X	X	X	X	X	X	X	NO	6	16
	R2	X					CMB	CMI	X	X	X	X	X	X	X	NO	6	16
100	R3	X					CMB	CMI	X	X	X	X	X	X	X	NO	6	16

INTRUCCIONES: Marcar con una cruz (+) el casillero que corresponde al tubo con presencia de crecimiento.
M= Muestra; R1 = Primera; R2 = Segunda repetición; R3 = Tercera repetición.
TG- = Tubo control negativo; TC+ = Tubo control positivo; T1, 512 ug/ml = Corresponde a la concentración de antibiótico en el tubo 1 y así sucesivamente con los siguientes tubos.
Siembra en Macconkey : el tubo que tiene crecimiento y el tubo que no presenta crecimiento = si no hay crecimiento en agar macconkey corresponde a la CMB. Y si hay crecimiento corresponde a la CMI; No de Tubo: colocar el número de tubo y su concentración en ug/ml según corresponda
CMI: Es la menor concentración de anti microbiano capaz de inhibir el crecimiento de bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación.
CMB: es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir las bacterias de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.



SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS.

- Luego de realizado el trabajo de campo se entregaron los resultados al jefe del Laboratorio clínico del HB-7 Dra. Elsa Ramírez, además se realizó una charla donde se socializó los resultados con todo el personal de salud del Hospital Militar HB-7 de la ciudad de Loja, acto que se llevó a cabo el día 07 de Agosto de 2015.



Loja, 27 de Julio del 2015.

Sr. Crnl. Edison Moreno
DIRECTOR DEL HOSPITAL MILITAR B-7
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Las estudiantes del octavo módulo de la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, por medio del presente nos dirigimos muy respetuosamente a Ud. para extenderle un fraterno saludo y a la vez desearle éxitos en sus funciones.


Aprovechando la oportunidad para solicitarle de la manera mas comedida se digne en autorizarnos el permiso correspondiente para dar cumplimiento al tercer objetivo planteado "Difusión de resultados al personal de Salud", de este prestigioso plantel. Proyecto de tesis denominado: CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE GENTAMICINA, AMIKACINA, CIPROFLOXACINA, CEFUROXIMA, AMPICILINA Y CEFOTAXIMA FRENTE A ESCHERICHIA COLI EN MUESTRAS DE UROCULTIVO DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR DE LA CIUDAD DE LOJA.

De acuerdo a lo antes mencionado, desde ya le antelo mis más sinceros agradecimientos. Esperando que la presente tenga su favorable acogida misma que servirá como aporte para el conocimiento de los profesionales y para el beneficio de los pacientes.

Muy atentamente,

Ana Gabriela Castillo Gonzaga
Deydamia Andrade Chalaco
Daniela Alejandra Flores Pasaca
Ximena Nathaly Granda Briceño
Liliana del Cisne Jima Solano
Ximena Lizbeth Lanche Silva
Irene Rocío Suquilanda Espinosa

ESTUDIANTES DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.


CBOL: ZAMBORANO Socci
27/07/2015 15:21

SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS: TRÍPTICO

CONCLUSIONES

- ◆ 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.
- ◆ 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

RECOMENDACIONES

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



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE
LOJA

AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO
CLINICO

TEMA:
**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**

LOJA- ECUADOR
2015

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 colispp 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.

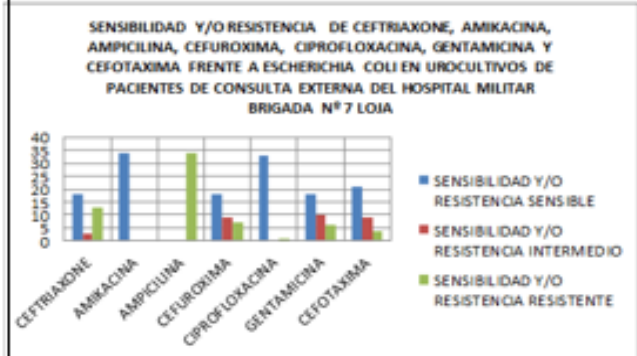
CIM: es la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo después de un tiempo de incubación que generalmente es de 24 horas.

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%
OPROFLOXACINA	33		1	34	100%
GENTAMICINA	18	10	6	34	100%
CEFOTAXIMA	21	9	4	34	100%



ANEXO N°31

CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO: CISAQ-UNL


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**
Laboratorio de Análisis Químico
Unidad de Fitoquímica

Of. N° 007-2015-UFQ-LAQ-UNL Loja, 10 de julio de 2015

Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana, Responsable de la Unidad de Fitoquímica, del Laboratorio de Análisis Químico-UNL (antes CISAQ), por medio del presente **CERTIFICO** que la señorita Daniela Alejandra Flores Pasara, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, con C.I. N° 1105164915 desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad de Fitoquímica el componente práctico de su proyecto de tesis denominado **"Concentración mínima inhibitoria de refuroxima frente a *Escherichia coli* spp aislada en urocultivos de pacientes de consulta externa del Hospital Militar de la Ciudad de Loja"**, durante el período marzo-mayo del presente año, trabajo que fue desarrollado bajo mi supervisión y acogiéndose al proyecto de Tesis aprobado por la carrera.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente como a bien tuviere.

Atentamente,


Dr. Luis A. Morocho Y., Mg. Sc.
Responsable Unidad Fitoquímica-
UNL.

EVIDENCIAS

FASE PRE- ANALÍTICA

Fecha: 03-02-17

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

Señor: Antonio López Rojas mayor de edad, con domicilio en: Barahona C.I.: 11542642 padre/madre de este menor Antonio López Rojas

MANIFIESTA

Que conozco la participación de este menor Quito Celso de 12 años de edad, en el proyecto de investigación denominada: **CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE GENTAMICINA, CEFUROXIMA, CEFTRIAXONA, AMPICILINA, CIPROFLOXACINA Y AMIKACINA, FRENTE A Escherichia coli, AMALIA EN URICULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA No.7404A.**

6. La información será utilizada para analizar el nivel de concentración de antibióticos en el suero. Si hay la presencia de estos antibióticos, se evaluará la concentración mínima inhibitoria de estos antibióticos que podrá ser usado para el tratamiento de infecciones de sus organismos.

7. Los resultados de las pruebas no podrán ser divulgados con el nombre de mi hijo/hija sin mi autorización expresa.

8. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto de tesis sin mi consentimiento.

9. En el supuesto de que la autoridad judicial solicite la revelación de alguna información, esta laboratorista estará obligada a proporcionar solo aquella que sea relevante para el asunto en cuestión manteniendo la confidencialidad de cualquier otra información.

10. La participación de mi hijo/hija 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 PADRE/MADRE: Antonio López Rojas
C.I.: 11542642

FIRMA DEL INVESTIGADOR: [Firma]
C.I.: [C.I.]

Fig. 1 Aplicación del consentimiento Informado.



Fig., 2 Preparación de medios de cultivo



Fig. 3 Control de Calidad de medios de cultivo

FASE ANALÍTICA

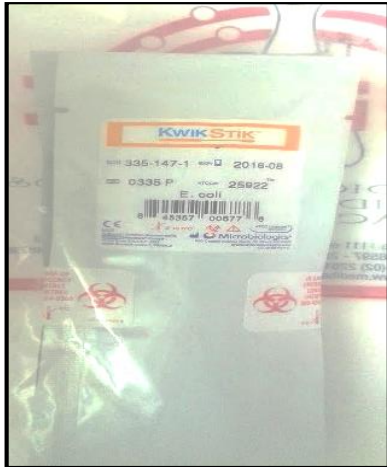


Fig. 4 Cepa Control E. coli ATCC 25922



Fig.5 Reconstitución de cepa control



Fig. 6 Proceso de siembra en agar Sangre
Y Agar MacConkey



Fig. 7 Técnica de Macrodilución
(Pipeteo)

FASE POST. ANALÍTICA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
 AREA DE LA SALUD HUMANA
 CARRERA DE LABORATORIO CLINICO
 REGISTRO INTERNO DE RESULTADOS

FECHA: 2017-03-20

N°	NOMBRE	MEDIOS DE CULTIVO				PRUEBAS BIQUÍMICAS										MICROORGANISMO ASADO			
		AGAR MACCONKEY	AGAR SANGRE	AGAR CAT.	UPT	UPTATO	IND.	INDOL	SDP	TRPA	CO-NA	DE	DE	DE	DE		DE	DE	DE
1
2
3
4
5
6

DIRECTOR DEL LABORATORIO

Fig. 8 Registro de Resultados

<p>CONCLUSIONES</p> <ul style="list-style-type: none"> 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 pruebas de este tipo para varios antimicrobianos de uso clínico y para bacterias frecuentemente aisladas de infecciones de vías urinarias. Con la información obtenida de los métodos estandarizados se ha podido detectar cepas intrínsecamente resistentes a los antimicrobianos y reportar con ellas datos que la hospital, acortando a la terapéutica. 	<p>RECOMENDACIONES</p> <ol style="list-style-type: none"> Destacar la prevención y tratamiento adecuado en las infecciones principalmente la de vías urinarias, que este número en el uso de los antibióticos, con charlas educativas dirigidas por profesionales de la salud, laboralmente, según y expedito, y de esta manera evitarla subsecuentemente. 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: CONCENTRACION MINIMA INHIBICION DE AMPICILINA, AMIKACINA, CEFOTAXIMA, CEFUROXIMA, GEPOTAXIMA, SUBSTANCIA Y CIPROFLOXACINA FRENTE A ESQUELINTHA COLI AISLADA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL MILITAR BRIGADA NRO. 1 LOJA</p> <p>LOJA, ECUADOR</p>
---	--	---

Fig. 9 Tríptico Resultados.



Fig. 10 Charla de Difusión de Resultados.

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA	vi
1. TÍTULO.....	1
2. RESUMEN	2
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA	7
4.1. INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS	7
4.1.1 FACTORES DE RIESGO	7
4.1.2 PATOLOGÍA.....	8
4.2 ENTEROBACTERIAS	9
4.2.1 ESCHERICHIA COLI (E.coli)	10
4.3 RESISTENCIA BACTERIANA	12
4.3.1 DEFINICIÓN.....	12
4.3.2 TIPOS DE RESISTENCIA	12
4.4 ANTIBIÓTICOS	14
4.4.1 DEFINICIÓN.....	14
4.4.2 CEFALOSPORINAS	15
4.5 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	18
4.5.1 DETERMINACIÓN DE IVU POR UROCULTIVO.....	18
4.5.2 TECNICAS DE DILUCIÓN	19
5. METODOLOGÍA.....	23
6. RESULTADOS	27
7. DISCUSIÓN	30
8. CONCLUSIONES	33
9. RECOMENDACIONES:.....	34
10. BIBLIOGRAFÍA	35
11. ANEXOS	38
ÍNDICE DE TABLAS	87
ÍNDICE DE ANEXOS	88

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N.- 1 Urocultivos realizados a pacientes que acuden a Consulta Externa del Hospital Militar Brigada Nro.7 Loja.....	28
Tabla N.- 2 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefuroxima frente a Escherichia coli aislada de urocultivos.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO N.1Oficio dirigido al director del Hospital Militar HB-7 Loja.....	39
ANEXO N.2Oficio dirigido al director del CISAQ-UNL.....	40
ANEXO N.3Consentimiento informado para menores de edad.....	41
ANEXO N.3.1Consentimiento informado para mayores de edad.....	42
ANEXO N.4 Protocolo de toma de muestra de orina.....	43
ANEXO N.5Protocolo de transporte y conservación de muestra (orina).....	44
ANEXO N.6 Registro general de paciente.....	45
ANEXO N.7 Sangre agar base.....	46
ANEXO N.7.1 Protocolo de preparación hemoglobina liofilizada de bovino BBL.....	47
ANEXON.8AgarMacConkey.....	48
ANEXO N.9MuellerHinton caldo.....	49
ANEXO N.10 Urea agar base, christensen.....	50
ANEXO N.11Citrato agar Simmons.....	51
ANEXO N.12Triple azúcar hierro agar (TSI).....	52
ANEXO N.13Agar SIM (motilidad, indol, sulfuro de hidrógeno).....	53
ANEXO N.14 Hierro agar lisina (LIA).....	54

ANEXO N.15	Cepa control E. coli ATCC 25922 reconstitución de la bacteria.....	55
ANEXO N.16	Validación y control de calidad.....	58
ANEXO N.17	Prueba piloto.....	60
ANEXO N.18	Método de Kass.....	63
ANEXO N.19	Tinción de gram.....	54
ANEXO N.20	Prueba de oxidasa.....	65
ANEXO N.-21	Prueba de catalasa.....	67
ANEXO N.22	Procedimiento de siembra citrato agar Simmons.....	68
ANEXO N.23	Procedimiento de siembra urea agar base, christensen.....	69
ANEXO N.24	Procedimiento de siembra triple azúcar hierro agar (TSI).....	70
ANEXO N.25	Procedimiento de siembra hierro agar lisina (LIA).....	71
ANEXO N.26	Procedimiento de siembra agar SIM (motilidad, indol, sulfuro de hidrógeno).....	72
ANEXO N.27	Técnica de macrodilución en caldo.....	73
ANEXO N.28	Pruebas registro de pruebas bioquímicas.....	78
ANEXO N.29	Registro de resultados concentración mínima inhibitoria.....	79
ANEXO N.30	Socialización de resultados.....	80
ANEXO N.31	Certificado de cumplimiento CISAQ-UNL.....	83