UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

"Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del Hospital General Isidro Ayora Loja"

MACROPROYECTO

"Caracterización molecular de betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los hospitales Isidro Ayora y Solca de Loja"

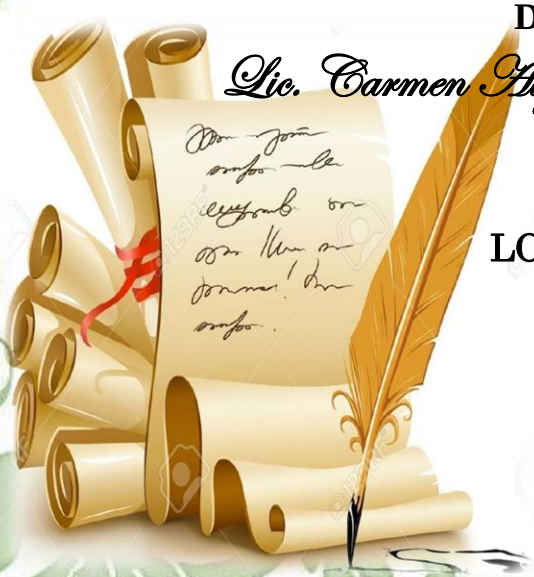
TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO

AUTORA:

Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro

DIRECTORA:

Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg.Sc.



LOJA – ECUADOR

2018

Certificación

Lic. Carmen Ullauri González, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Haber asesorado, revisado y orientado en todas sus partes, el desarrollo de la tesis de investigación titulada: **"ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA LOJA"** de autoría del Srta. Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro, misma que ha sido asesorada y monitoreada con pertinencia y rigurosidad científica como estipula la normativa vigente de la Universidad Nacional de Loja, razón por la cual autorizo su presentación, sustentación y defensa correspondiente.

Loja, 29 de octubre del 2018

Atentamente,

.....

Lic. Carmen Ullauri González, Mg.sc

DIRECTORA DE TESIS

Autoría

Yo, Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente, acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro

Firma:

Cedula: 0104672027

Fecha: 29 de octubre del 2018

Carta de Autorización

Yo, Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro, declaro ser autor de la tesis titulada: **"ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA LOJA" ,** como requisito para optar el 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 29 días del mes de Octubre de dos mil dieciocho, firma el autor.

Firma: ……..
Autor: Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro
Cédula: 0104672027
Dirección: Loja (Parroquia El Valle: Barrio Sauces Norte)
Correo Electrónico: evelyn.daya.n95@gmail.com
Teléfono: 072542172 **Celular:** 0990819272

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de tesis: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.
Tribunal de Grado
Presidente: Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.
Vocal: Lic. Marlon Rolando Bravo Bonilla, Mg. Sc.
Vocal: Lic. Alicia Silvana Villavicencio Obando, Mg. Sc.

Dedicatoria

Llena de mucho cariño y esperanza dedico este trabajo a cada uno de mis familiares, quienes han sido los pilares fundamente para seguir cada vez adelante, es de mucha satisfacción dedicarles un trabajo lleno de esfuerzo y dedicación:

Primero a Dios, por guiar cada paso de mi vida y permitirme concluir esta etapa de mi carrera.

A mis padres, por brindarme siempre su apoyo incondicional y ayudarme a superar los momentos más difíciles.

A mi hermano, que desde lejos me ha ayudado mucho con sus consejos y su ejemplo para seguir adelante siempre.

A Cristian, quién me acompañó durante todo este tiempo con sus palabras de aliento.

Agradecimiento

Agradezco infinitamente primero a Dios por permitirme culminar con éxito mi carrera y a lado de mis seres queridos, a mis papás Saúl Atancuri y Marfita Barreiro que gracias a su apoyo incondicional, cariño y fuerza de carácter han sabido guiarme para seguir siempre mis sueños y alcanzar mis metas, son lo más importante en mi vida y sin ellos nada de esto fuera posible; a mi hermano Javier Atancuri, mi ejemplo a seguir quién a pesar de la distancia ha sabido apoyarme con sus buenos consejos y me ha sabido enseñar que con trabajo y dedicación se puede alcanzar éxito profesional; a una persona muy especial que me ha acompañado y brindado su cariño en todo momento Cristian Castillo, gracias a ustedes por su apoyo siempre.

De igual forma quiero expresar mi más sincero agradecimiento al director del laboratorio del Hospital General Isidro Ayora, quien hizo posible gran parte el desarrollo de mi trabajo, de igual forma a mi directora de tesis Lic. Carmen Ullauri González, Mg.sc quién con su conocimiento, experiencia y paciencia me guio en el transcurso del desarrollo de mi tesis y aportó mucho a la mejora continua en base a la estructura de la misma.

Índice

Carátula i
Certificación ii
Autoría iii
Carta de autorización iv
Dedicatoria v
Agradecimiento vi
a. Título 1
b. Resumen 2
Abstract 3
c. Introducción 4
d. Revisión de literatura 6
1. Infección de vías urinarias 6
1.1. Epidemiología 7
1.2. Patogenia 7
1.3. Agentes etiológicos 8
1.4. Características de la familia Enterobacteriaceae 8
1.5. Diagnóstico de laboratorio 9
1.6. Elemental y microscópico de orina (EMO) 9
1.7. Urocultivo 10
1.7.1. Medios de cultivo. 10
1.7.2. Método de KASS 10
1.7.3. Características de las colonias 11
1.7.4. Identificación bioquímica 11
1.7.5. Antibiograma 13
1.7.6. Método de difusión disco – placa (Kirby-Bauer) 13
1.8. Resistencia bacteriana a los antibióticos 14
1.9. Tipos de resistencia 14
1.10. Mecanismo de resistencia a betalactámicos 15
1.10.1. Modificación del sitio blanco de acción. 15
1.10.2. Formación de genes mosaico por la incorporación de fragmentos de material genético de otros microorganismos. 15
1.10.3. Producción de enzimas β – lactamasas. 16
1.10.4. Bombas de eflujo. 16
1.11. Clasificación de las betalactamasas 16

1.11.1. Betalactamasas de espectro extendido. 16
1.11.2. Betalactamasas resistentes a los inhibidores. 16
1.11.3. Betalactamasas de tipo AmpC. 16
1.11.4. Carbapenemasas. 16
1.12. Estructura molecular de la multirresistencia 17
1.13. Antibióticos betalactámicos 17
1.13.1. Penicilinas 17
1.13.2. Cefalosporinas 18
1.13.3. Monobactámicos y carbapenémicos 18
1.13.4. Genes de resistencia de betalactamasas de espectro extendido 18
1.13.5. Detección fenotípica de BLEE 19
1.13.6. Gen AmpC 19
1.13.7. Detección fenotípica AmpC 20
1.13.8. Genes de carbapenémicos 20
1.13.9. Detección fenotípica de Carbapenemasas 21
e. Materiales y métodos 22
f. Resultados 26
g. Discusión 32
h. Conclusiones 35
i. Recomendaciones 36
j. Referencias bibliográficas 37
k. Anexos 42
m. Apéndices 85

a. Título

“**Enterobaterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora Loja.**”

b. Resumen

La resistencia bacteriana es uno de los problemas actuales que afecta la salud pública, un mecanismo común en bacilos Gram-Negativos es la producción de betalactamasas definidas como enzimas capaces de destruir el anillo betalactámico inhibiendo la actividad antibiótica y dando lugar al fracaso terapéutico. El presente trabajo denominado "Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora Loja" es de tipo descriptivo transversal, tiene como objetivo identificar y clasificar el tipo de betalactamasas producidas por enterobacterias causantes de infecciones de vías urinarias (IVU) y su distribución según edad, sexo y área del servicio de salud de la cual provienen. El estudio constó de 208 muestras de orina, la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó por métodos automatizados; la confirmación fenotípica de betalactamasas se realizó según las condiciones descritas en la tabla N° 3A y N° 3B del Manual M100 S27, para detección de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas respectivamente. *Escherichia coli* fue la bacteria predominante, el 73,2 % fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y el 2,4 % produjeron penicilinasas (AmpC); carbapenemasas fueron producidas por *Klebsiella pneumoniae* con 2,4 %. La población de la que se aislaron enterobacterias productoras de BLEE fueron mujeres, el grupo etario del adulto mayor 48,9 % seguido por el adulto joven y el servicio de salud de emergencia 51,3 % seguido por consulta externa.

Palabras clave: Enterobacterias, IVU, BLEE, carbapenemasas, AmpC.

Abstract

Bacterial resistance is one of the current problems affecting public health, a common mechanism in Gram-Negative bacilli is the production of beta-lactamases defined as enzymes capable of destroying the beta-lactam ring inhibiting antibiotic activity and leading to therapeutic failure. The present job called "Enterobacteria producers of betalactamases causing urinary tract infections in users of Isidro Ayora Loja Hospital" is a cross-sectional descriptive type, aims to identify and classify the type of beta-lactamases produced by enterobacteria that causes urinary tract infections (UTI) and its distribution according to age, sex and area of the health service from which they come from. The study consisted of 208 urine samples, the identification and determination of antimicrobial susceptibility was performed by automated methods; the phenotypic confirmation of beta-lactamases was carried out according to the conditions described in the table No. 3A and No. 3B of Manual M100 S27, for the detection of extended-spectrum beta-lactamases and carbapenemases, respectively. *Escherichia coli* was the predominant bacterium, 73.2 % were producers of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and the 2.4 % produced penicillinases (AmpC); carbapenemases were produced by *Klebsiella pneumoniae* with 2.4 %. The population from which ESBL-producing enterobacteria were isolated were women, the age group of the older adult 48.9 % followed by the young adult and the emergency health service 51,3 % followed by outpatient consultation.

Keywords: Enterobacteria, IVU, ESBL, carbapenemases, AmpC.

c. Introducción

Las infecciones de vías urinarias son uno de los problemas de salud más frecuentes, los cuales han representado en las últimas décadas cerca de 7 millones de consultas médicas ambulatorias y aproximadamente un millón de hospitalizaciones anuales; según estudio realizado en Medellin – Colombia sobre prevalencia de infección urinaria en el año 2014 reporta frecuencia de 53067 casos/100000 mujeres y de 13689/ 100000 hombres; las bacterias comúnmente causantes de este tipo de infecciones son las enterobacterias por su propiedad de desarrollar mecanismos de defensa para combatir a diversos antibióticos denominada resistencia bacteriana, en la actualidad existen muchas bacterias capaces de modificar su estructura morfológica, secretar sustancias para atenuar a los antibióticos o cambiar su estructura molecular como es el caso de la secreción de enzimas atenuantes de diversos tipos de antibióticos o también denominadas betalactamasas. (Orrego, Henao & Cardona 2014).

Debido al incremento abrupto de bacterias multirresistentes es que se ha creado un nuevo Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), denominado GLASS por sus siglas en inglés; el cual reporta la frecuencia de resistencia bacterianas, en lo referente a las IVU las enterobacterias son causantes del 75% de ellas. (OMS, 2018) (López, Torres & Prada 2016).

Las resistencias bacterianas confirman el problema de salud que existe, entre los factores de mayor importancia está: el poco interés que se da a las medidas de prevención y control bacteriano y al inadecuado uso de antibióticos; motivo por el cual se destaca la importancia de realizar urocultivos a pacientes que presenten sintomatología, con el fin de evitar fracasos terapéuticos y la creación de nuevas resistencias. (López, Torres & Prada 2016).

La presente investigación titulada “Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en el Hospital Isidro Ayora Loja”, de tipo cuantitativo, descriptivo – transversal y ejecutada como parte del macroproyecto titulado: “Caracterización molecular de betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los hospitales Isidro Ayora y Solca de Loja”, se enfocó en la identificación de especies de enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias, la identificación fenotípica de betalactamasas y su distribución en usuarios del hospital según sexo, edad y área de servicio de salud del que provienen.

Las enterobacterias predominaron como agente etiológico de las infecciones de vías urinarias, siendo *Escherichia coli* el germen prevalente; se detectaron mecanismos de resistencia como betalactamasas de espectro extendido que se presentaron con mayor frecuencia en pacientes de género femenino, mayores de 60 años, provenientes del servicio de emergencia.

d. Revisión de literatura

1. Infección de vías urinarias

El término infección de vías urinarias (IVU) se refiere a la colonización de microorganismos en un número significativo que pueda causar o no sintomatología clínica como: micción frecuente y dolorosa, tenesmo, fiebre, dolor lumbar, disuria, polaquiuria, la orina toma una consistencia turbia y con frecuencia acompañada de mal olor. (Cabello, 2007).

Las IVU se producen por vía ascendente por un uropatógeno que coloniza la mucosa periuretral procedente habitualmente del intestino, se manifiestan principalmente con un síndrome miccional. La mayor parte de estas infecciones son no complicadas y se presentan en mujeres sexualmente activas generalmente. (Yuste, Pozo & Carmona 2018).

En el año 2011 la Asociación Europea de Urología (EAU) propuso el siguiente sistema de clasificación ORENUC que se enfoca en la manifestación clínica de la infección, la categorización de los factores de riesgo y la disponibilidad de la terapia antimicrobiana apropiada, entre estas tenemos (Sola, Rodríguez & Martínez 2017):

No complicadas: Afecta a mujeres premenopáusicas no embarazadas sin anomalías anatómicas y funciones del tracto urinario sin comorbilidades.

Complicadas: Se presenta en hombres, mujeres embarazadas, pacientes con anomalías anatómicas o funcionales, catéteres urinarios permanentes, enfermedades renales o inmunosupresoras concomitantes.

Recurrentes: infecciones repetitivas de al menos 3 episodios por año, incluyen cistitis y pielonefritis que deben considerarse como IVU complicadas.

Urosepsis: Se trata de una respuesta sistémica a la infección originada en el tracto urinario y en los órganos genitales masculinos, se acompaña de signos de inflamación sistémica, disfunción orgánica e hipotensión persistente asociado con anoxia del tejido.

1.1. Epidemiología

Las IVU son más comunes tanto a nivel comunitario como a nivel general de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria, de todos los procesos infecciosos un 10% se encuentran relacionados con IVU; aproximadamente más del 80% de las IVU se da en mujeres y se cree que entre el 50 y 60% de mujeres adultas tuvieron al menos un episodio de infección de tracto urinario a lo largo de su vida, cabe destacar que en mujeres premenopáusicas la actividad sexual es el principal factor de riesgo de una infección recurrente. (Yuste, Pozo & Carmona 2018).

Más del 95% de las IVU están relacionadas con un solo patógeno como agente causal y es *Escherichia coli* el responsable de la mayoría de ellas especialmente en pacientes ambulatorio con infecciones agudas, por otro lado cuando se trata de infecciones recurrentes e infecciones intrahospitalarias incrementa la frecuencia relativa de otros microorganismos como *Proteus, Pseudomonas, Klebsiella, Enterobacter, Enterococcus* y *Staphylococcus spp.* (ARS MÉDICA, 2018).

1.2. Patogenia

La vía urinaria es un sitio estéril a excepción del sitio distal de la uretra que se encuentra colonizada por la flora vaginal en el caso de mujeres y la flora cutánea digestiva en ambos sexos, las bacterias ascienden hasta la vejiga y en ciertos casos la pelvis renal, dichas bacterias deben ser eliminadas mediante el flujo urinario y en menor medida por propiedades antibacterianas de la orina ya sea por la osmolaridad, concentración de la urea, de ácidos grasos y pH, al igual que otros factores que impiden

la adherencia bacteriana; cuando estas bacterias no pueden ser eliminadas se inicia la adhesión e invasión tisular dando lugar a la infección. (Yuste, Pozo & Carmona 2018).

1.3. Agentes etiológicos

La mayor parte de las infecciones de tracto urinario son ocasionadas principalmente por microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, los cuales son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, cuyo hábitat natural es el intestino; son bacterias de vida libre y se las puede encontrar en el suelo, agua contaminada, el medio ambiente, plantas e insectos; presentan una estructura antigénica compleja; los antígenos "O" se encuentran en la pared de la bacteria son en su mayoría polisacáridos o proteínas, los antígenos "H" se encuentran en los flagelos son de naturaleza proteica, los antígenos "K" se encuentran en la cápsula de bacterias que pueden formar macrocápsulas, microcápsulas o capa mucilaginosa, están formados por polisacáridos. (Prats 2007).

Escherichia coli es el principal microorganismo de la familia Enterobacteriaceae causante de infecciones de vías urinarias en pacientes ambulatorios, por el contrario, al tratarse de una infección recurrente o de mayor gravedad otros agentes etiológicos van aumentando su frecuencia relativamente, entre ellos están: *Klebsiella spp, Proteus spp, Pseudomonas spp, Enterobacter spp, Enterococcus spp y Staphylococcus spp.* (ARS MÉDICA, 2018).

1.4. Características de la familia Enterobacteriaceae

La familia Enterobacteriaceae se caracterizan por la acción que tienen de fermentar glucosa a ácido y esto lo pueden realizar con producción de gas o no, son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, capaces de producir catalasa, su crecimiento no es favorecido en presencia de cloruro de sodio (NaCl), reducen nitratos a nitritos, son

oxidasas negativas, la mayor parte de ellos son móviles con flagelos perítricos. (Montaluisa, 2016)

1.5. Diagnóstico de laboratorio

La orina es una muestra estéril, aunque esta se puede contaminar al pasar por la uretra; es por ello que se recomienda eliminar el primer chorro de orina y recoger el chorro intermedio, a medida que pasa el tiempo los microorganismos patógenos del aparato genitourinario proliferan su crecimiento, motivo por el cual se recomienda que el traslado de la muestra sea inmediatamente luego de su recolección; si el traslado inmediato de la muestra no es posible se debe refrigerar o poner en un conservante bacteriostático de la orina con el propósito de evitar la proliferación bacteriana y descartar falsos positivos (Murray, 2009).

1.6. Elemental y microscópico de orina (EMO). Evalúa los parámetros: físico, químico y microscópico, mediante la observación y medición de los diferentes compuestos que forman parte de la orina, (Strasinger & Lorenzo, 2016):

Análisis físico. Se observan las características físicas de la orina, es decir aquellas que pueden ser observadas a simple vista como color, olor, aspecto, volumen. ***Análisis químico.*** Este análisis se lo realiza con la ayuda de una tira química para orina, que tiene como propiedad cambiar de color al ponerse en contacto con las diferentes sustancias químicas de la orina, consta de los siguientes parámetros: densidad, pH, proteínas, glucosa, cetonas, leucocitos, nitritos, sangre, bilirrubina, urobilinógeno.

Análisis microscópico. Se basa en la observación del sedimento urinario, como confirmación del análisis químico de orina, además es fundamental para descartar o afirmar una infección bacteriana correlacionando la presencia de leucocitos.

1.7. Urocultivo. Se lo utiliza con el fin de cuantificar las unidades formadoras de colonias por mililitro de orina (UFC/ml), cada UFC encontrada en el cultivo está considerada como una bacteria viable en la muestra; la técnica de urocultivo más utilizada es la siembra con asa calibrada, la cual permite depositar en el medio de cultivo una cantidad determinada de muestra, para realizar la siembra generalmente se utiliza un medio no selectivo en el cual a cabo de 24 a 48 horas se obtendrá crecimiento bacteriano y se procederá posteriormente a partir de esa cepa la siembra en medios selectivos para la identificación de la misma (Pigrau, 2013) (Murray, 2009).

1.7.1. Medios de cultivo.

Las enterobacterias crecen bien en medios de cultivo primarios como agar sangre y medios de cultivo selectivo como agar MacConkey (Murray, 2009):

Agar sangre: medio no selectivo, contiene dos componentes fundamentales: 1) un medio basal (soja tríptica, infusión cerebro-corazón, base de Brucella). 2) sangre (bovina, conejo u oveja), se pueden adicionar más suplementos para ampliar el número de gérmenes que pueden crecer en estos medios de cultivo.

Agar MacConkey. Es un medio selectivo que permite el crecimiento de bacterias Gram-Negativas y diferencial para diferenciar entre las bacterias que fermentan lactosa y las que no, contiene: lactosa, rojo neutro, sales biliares y violeta cristal; estos dos últimos inhiben el crecimiento de bacterias Gram-Positivas.

1.7.2. Método de KASS

Es una técnica de siembra que consiste en depositar en el centro del medio de cultivo la cantidad tomada de la muestra con el asa calibrada, a partir de ahí se traza una línea recta hacia cada extremo de la placa; luego con la misma asa sin esterilizarla ni tomar más cantidad de muestra se realiza una estriación en zigzag de

manera que interceptara la línea central de lado a lado, este método permite la siguiente interpretación: si luego del tiempo de incubación existe crecimiento en todas las líneas de siembra se considera un recuento de 100000 UFC/ml (Andreu, Cacho, Coira & Lepe, 2010)

1.7.3. Características de las colonias

La mayor parte de enterobacterias presentan una forma característica de crecimiento en medios sólidos, éstas son generalmente colonias circulares, convexas y lisas con bordes distintivos, ciertos especímenes suelen variar muy poco como es el caso de *Enterobacter* que presentan colonias con mayor mucosidad, en cambio las colonias de *Klebsiella* son grandes y su mucosidad es mucho mayor, que tienden a experimentar coalescencia al ser sometidas a incubaciones prolongadas (Jawetz, 2010).

1.7.4. Identificación bioquímica

En la actualidad existe una gran cantidad de pruebas bioquímicas que aportan gran sensibilidad en la identificación bacteriana y estas pruebas cada vez son más sofisticadas, todos los miembros de la familia enterobacteriaceae se pueden identificar eficazmente en un lapso inferior a 24 horas mediante cualquier tipo de sistema de identificación, con pruebas bioquímicas básicas como son: prueba de oxidasa, triple azúcar hierro (TSI), citrato, urea, sulfato-indol-motilidad (SIM), lisina, entre otros. (Murray, 2009).

SIM. Es un medio semisólido transparente que pone en evidencia la movilidad del microorganismo, la producción de triptófano y de sulfuro de hidrógeno (SH_2). Si los microorganismos son móviles se produce un enturbiamiento en el medio cultivo, si no lo son las bacterias solo crecen en el lugar de punción; luego de la

incubación se realiza la prueba de indol mediante la adición del reactivo de Kovacs en la superficie del medio si se da la coloración rosa es positiva. (Murray, 2009).

Triple azúcar Hierro. Contiene tres carbohidratos: glucosa, sacarosa y lactosa, cuando estos se fermentan, la producción de ácido es detectada por el indicador rojo fenol cambiando su coloración al amarillo (alcalino) o rojo (ácido); en cuanto a la interpretación: fermentador de glucosa (alcalino/ácido K/A), fermentador de glucosa, lactosa y sacarosa (ácido/ácido A/A), no fermentador de lactosa, sacarosa ni glucosa (alcalino/alcalino K/K). (Dickinson, 2003).

Citrato. Los organismos capaces de utilizar el fosfato de amonio dihidrogenado y citrato sódico como las únicas fuentes de nitrógeno y carbón, producirán una reacción alcalina notablemente por el cambio de coloración del indicador azul de bromotimol desde el verde al azul. (Dickinson, 2015).

Urea. Determina la capacidad de los microorganismos para desdoblar la urea en aminoácidos y CO_2 por acción de la enzima ureasa, esta reacción positiva se evidencia con el cambio de color del medio amarillo al color rojizo por el indicador rojo fenol. (Laboratorios Britania S.A., 2018).

Lisina. Esta prueba consta de glucosa que es el hidrato de carbono fermentable y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas descarboxilasa y deaminasa los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio y producen el viraje del color púrpura al amarillo; los microorganismos fermentadores de glucosa que no tienen actividad lisina descarboxilasa a las 24 horas de incubación se observa en el fondo del tubo color amarillo y la superficie violeta, la generación de sulfuro de hidrógeno se observa en el ennegrecimiento del medio. (Laboratorios Britania S.A., 2018).

1.7.5. Antibiograma

El instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (CLSI), define al antibiograma como “un perfil de general de los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana de una especie microbiana frente a una batería de agentes antimicrobianos. (Hernández 2013).

Sensible. Cuando un determinado antibiótico puede inhibir el crecimiento bacteriano, por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.

Intermedio. Cuando un determinado antibiótico puede inhibir el crecimiento bacteriano a una concentración que se relaciona con un efecto terapéutico incierto.

Resistente. Cuando un determinado antibiótico inhibe el crecimiento bacteriano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico.

1.7.6. Método de difusión disco – placa (Kirby-Bauer)

Consiste en la inoculación de colonias previamente diluidas en solución salina a una concentración 0,5 de la escala McFarland en una placa de agar Mueller Hinton, una vez ya inoculado el microorganismo se realiza el depósito del disco de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos en la superficie de la placa a una distancia considerable de disco a disco, los antibióticos al estar en contacto con la superficie del agar se difunde por él, con lo que se obtiene una gradiente de concentración; posterior al tiempo de incubación de 24 a 72 horas los discos muestran una zona de inhibición alrededor de ellos denominado halo de inhibición el cual debe ser medido para determinar si la bacteria es sensible, intermedio o resistente a los diversos tipos de antibióticos (Mérida & Moreno, 2015).

1.8. Resistencia bacteriana a los antibióticos

La aparición de cepas bacterianas resistentes y multirresistentes es una causa de mayor problema en los hospitales de todo el mundo, ya que podrían llevar al desarrollo de infecciones de mayor complejidad y por consiguiente que sean difíciles de tratar; el actual surgimiento de la resistencia bacteriana frente a los antibióticos obliga a toda la comunidad hospitalaria y a los usuarios al uso de antibióticos con mayor responsabilidad (Rivera, Ulloa, & Mercado, 2011).

Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos han diseñado procedimientos con el fin de prevenir o reducir la resistencia a antibióticos, estos son: participación oportuna de infectólogos, elección correcta de antibióticos según el patrón de sensibilidad antimicrobiana, uso apropiado de antibióticos profilácticos en la cirugía, aplicación correcta de técnicas de aislamiento e identificación de bacterias y el adecuado lavado de manos. La resistencia bacteriana se debe a tres mecanismos: 1) el fármaco no logra interferir con la función bacteriana, 2) el fármaco no se encuentra en forma activa, 3) el mecanismo de defensa de la bacteria se encuentra alterado (Gilman, 2012).

1.9. Tipos de resistencia

Resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, es la capacidad que tienen las bacterias de provocar cambios o modificaciones tanto a nivel interno como externo en ellas mismas para así poder sobrevivir, una cepa resistente es definida como “aquella que es capaz de multiplicarse en presencia de altas concentraciones que las alcanzadas con dosis terapéuticas” las bacterias tienen también la capacidad de asociarse a cada agrupación que tengan genes mutantes en común a ellas, lo que hace que la bacteria se vuelva resistente a los antibióticos a los que ha sido sometida. (Romero & Ibargüen 2014).

La resistencia que presentan las bacterias frente a diversas familias de antibióticos en la actualidad se ha convertido en un problema de mayor gravedad para la salud a nivel mundial, esto se debe al uso indiscriminado de fármacos, lo cual hace que se produzcan cada vez más cepas resistentes; las bacterias tienen dos tipos de resistencias una de esta es la resistencia natural, el cual es un mecanismo determinado genéticamente en varias cepas de una misma especie bacteriana sin tomar en cuenta su correlación con la dosis antibiótico; el otro tipo de resistencia es la adquirida mediante la modificación genética, sea esta por mutación o por adquisición de genes de resistencia mediante plásmidos, transposones e integrones; los antibióticos comúnmente afectados por este mecanismo son los betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol y sulfamidas (Pérez, 2013)

1.10. Mecanismo de resistencia a betalactámicos

Existen mecanismos que ponen en juego la resistencia bacteriana, entre estos están. (Universidad de la República 2006):

1.10.1. Modificación del sitio blanco de acción. el sitio blanco de los betalactámicos son las proteínas de unión a penicilinas (PBP), la información genética de estas proteínas se encuentra codificada en el genoma bacteriano, pueden ocurrir distintas alternativas para que se produzca una PBP que presente menos afinidad por los antibióticos.

1.10.2. Formación de genes mosaico por la incorporación de fragmentos de material genético de otros microorganismos. se da por la transformación y recombinación homóloga, genera secuencias en parche, es decir un gen modificado; conformado por fragmentos de material genético original y fragmentos nuevos.

1.10.3. Producción de enzimas β – lactamasas. Son enzimas de mayor prevalencia capaces de hidrolizar el anillo β – lactámico que poseen los antibióticos correspondientes a esta familia y de esta forma impiden su actividad antibacteriana.

1.10.4. Bombas de eflujo. Es un tipo de resistencia bacteriana adquirida, por estas bombas las bacterias pueden exportar una gran cantidad de sustratos desde el periplasma al ambiente, son delimitantes importantes de multirresistencia bacteriana (Muzo, 2017).

1.11. Clasificación de las betalactamasas

Según López (López, Torres, & Prada, 2016) las betalactamasas generalmente son clasificadas de acuerdo a los criterios de Ambler y de Bush-Jacoby-Madeiros. La clasificación de Ambler posee cuatro A, B, C, D basada en la similitud de los aminoácidos y no toma en cuenta las características fenotípicas, según esta clasificación las de clases son metalobetalactamasas y las de clase B y C serinobetalactamasas. La clasificación de Bush-Jacoby-Madeiros se basa en la similitud funcional y la característica de inhibición o no por el ácido clavulánico, se describen 4 grupos principales:

1.11.1. Betalactamasas de espectro extendido. Comprenden 2be, 2ber y 2de**,** corresponden las enzimas de tipo TEM, SHV (sulfidril variable), CTX-M (resistencia a ceftriaxona) y OXA (resistencia a oxacilina).

1.11.2. Betalactamasas resistentes a los inhibidores. Comprendida por el grupo 2br, tiene enzimas de tipo TEM y SHV.

1.11.3. Betalactamasas de tipo AmpC. Comprende el grupo 1, sus enzimas son de tipo LAT, MIR, CMY y FOX (resistente a cefoxitina).

1.11.4. Carbapenemasas. Contenidas en los grupos 2f, 2df y 3 y sus enzimas son de tipo VIM (verona metalo-beta-lactamasa codificada en el integron), IMP

(imipenemasa), IMI (hidroliza imipenémicos), KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa), NDM (New Delhi Metalobetalactamasa) y OXA.

1.12. Elementos moleculares de la multirresistencia

Los genes de resistencia frente a los distintos antimicrobianos existentes se encuentran relacionados con elementos móviles como son plásmidos, transposones e integrones; estos integrones son elementos genéticos que carecen de promotor y actúan como casete de expresión para los nuevos genes que se inserten, la movilización de estos casetes se encuentra facilitada por la presencia de la acción de la integrasa, dicha enzima ha logrado diferentes combinaciones y seleccionado varios antibióticos con lo que hace posible la creación de multirresistencias y su fácil diseminación por medio de plásmidos y transposones (Garza, Silva, & Matínez, 2009).

1.13. Antibióticos betalactámicos

Son antibióticos de acción bactericida lenta y de mayor preferencia por su escasa toxicidad para el ser humano y amplio margen para el tratamiento bacteriano; poseen un amplio espectro frente a las bacterias, inhiben la última etapa de la síntesis de la pared bacteriana, se encuentra constituida por los siguientes antibióticos (Montaluisa, 2016):

1.13.1. Penicilinas

Son bactericidas por su capacidad de inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana, fueron los primeros antibióticos de origen biológico usados en la terapéutica, actualmente se dispone de varios tipos de penicilinas como: Penicilina G (vía intravenosa, intramuscular y oral) es de primera elección para el tratamiento de infecciones por estreptococos y en la sífilis; penicilinas resistentes a las penicilinasas que destruyen ciertas bacterias grampositivas que producen

penicilinasa natural (estafilococos y neumococos); aminopenicilinas que actúan contra bacterias productoras de penicilinasa natural, al estar asociada con inhibidores de betalactamasas actúan contra bacterias que producen Blee (*Haemophilus influenzae*); finalmente peniclinas anti-Pseudomonas.

1.13.2. Cefalosporinas

Antibióticos sintetizados a partir de hongos del género *Cephalosporium*, se clasifican en generaciones dependiendo del tipo de bacterias que destruyen:

- ✓ 1ra generación: utilizado para el tratamiento contra gran parte de bacterias grampositivas y pocas gramnegativas.
- ✓ 2da generación: útil contra bacterias Gram-Positivas y Gram-Negativas en igual proporción.
- ✓ 3ra generación: eficaz contra bacterias Gram-Negativas principalmente y unas pocas Gram-Positivas.
- ✓ 4ta generación: utilizada para tratar infecciones causados por *Pseudomonas spp.* y otras Gram-Negativas relacionadas.

1.13.3. Monobactámicos y carbapenémicos

Son antibióticos de mayor eficacia que actúan contra bacterias gramnegativas resistentes a penicilinas y cefalosporinas, el aztrenam es el principal representante de los monobactámicos, mientras que imipenem, meropenem y ertapenem forman parte de los carbapenémicos.

1.13.4. Genes de resistencia de betalactamasas de espectro extendido

Las BLEE son el principal problema salud tanto en pacientes hospitalizados como en la comunidad, siendo las responsable de gran parte de las infecciones de tracto urinario, en los últimos años se han evidenciado aumento en el aislamiento

de enterobacterias productoras de BLEE, estas betalactamasas surgen principalmente por las mutaciones en betalactamasas codificadas por el gen bla SHV, bla TEM y bla CTX-M, se han identificado alrededor de 300 variantes naturales de BLEE como de tipo TEM, SHV, CTX-M, de tipo OXA entre otros; los genes de resistencia son transmitidos por plásmidos y a menudo se encuentran en los trasposones e integrones facilitando su movilización con otros mecanismos de resistencia (López, Torres, & Prada, 2016).

1.13.5. Detección fenotípica de BLEE

La detección de betalactamasas de espectro extendido según el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) modificado se realiza mediante el empleo de discos de cefotaxima y ceftazidima, cefepime y aztreonam a una distancia de 2,0 a 2,5 cm centro a centro de una disco de amoxicilina + ácido clavulánico ubicado en el centro de la placa betalactamasas de espectro extendido, una cepa es productora de BLEE cuando el halo de las cefalosporinas aumenta su diámetro en presencia de ácido clavulánico (Poulou, y otros, 2014).

1.13.6. Gen AmpC

Son enzimas cromosomales de expresión inducible actúan contra las penicilinas y tienen mayor actividad contra cefalosporinas, pertenecen a la clase C de la clasificación de Ambler y al grupo I de la clasificación de Bush, ciertas bacterias poseen este gen de forma natural como: *Enterobacter spp, Providencia spp, Morganella morganii, Serratia marcences, Citrobacter freundii y Hafnia alvei,* en la mayoría de las enterobacterias que expresa el gen AmpC se encuentran en el cromosoma bacteriano, su expresión es de bajo nivel e inducible frente a la exposición a ciertos betalactámicos (López, Torres, & Prada, 2016).

1.13.7. Detección fenotípica AmpC

Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación y en menor medida las de tercera generación, los inhibidores de este tipo de betalactamasas son cloxacilina y el aztreonam (ácido borónico y sus derivados); los métodos fenotípicos para la detección de AmpC plasmídicas solo son eficaces es ausencia de AmpC cromosómicas o a muy bajo nivel, la presencia de AmpC plasmídica se sospecha cuando estos aislados presenten sensibilidad a los betalactámicos, los métodos más confiables es el de sinergia de doble disco (cloxacilina o ácido-fenil-borónico y disco de cefotaxima y ceftazidima) y el método de discos combinados con inhibidores; existe un método sencillo para la diferenciación entre una AmpC plasmídica que presenta crecimiento de colonias dispersas en el borde de los halos de inhibición (cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam), mientras que en una AmpC cromosómica no se observa esto; existe un marcado fenotípico importante para la diferenciación entre AmpC y BLEE este es la cefoxitina, con ciertas excepciones las AmpC son muy resistentes a este antibiótico, en cambio los aislados productores de BLEE suelen ser sensibles. (Navarro, 2012).

1.13.8. Genes de carbapenemasas

Sus genes de resistencia son bla_{KPC} y bla_{NDM}; la producción de betalactamasas de tipo carbapenemasas es un mecanismo de resistencia importante de los bacilos gramnegativos, estas betalactamasas además de degradar carbapenémicos, hidrolizan prácticamente todos los betalactámicos; se pueden clasificar en 4 clases, las de clase A, C y D incluyen betalactamasas con serina en su sitio activo, en cambio las betalactamasas de tipo B corresponden a metalo-betalactamasas dependientes de zinc, esta resistencia puede estar determinada por la pérdida de la

porina PprD o por la sobreexpresión del mecanismo de expulsión activa del antibiótico (López, Torres, & Prada, 2016).

1.13.9. Detección fenotípica de Carbapenemasas

Las metalo-betalactamasas constituyen el grupo de mayor importancia de las Carbapenemasas, las enzimas principales son IMP y VIM poseen un perfil hidrolítico a todos los betalactámicos con la excepción del aztreonam; para la detección de carbapenemasas se debe utilizan un disco meropenem en el centro luego a una distancia de 1 o 2 cm se colocan los discos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y ácido borónico a cada lado (Navarro, Calvo, Cantón, Fernández, & Mirelis, 2011).

e. Materiales y métodos

1. Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo – transversal, realizado desde Diciembre 2017 hasta Abril 2018.

2. Unidad de estudio

El "Hospital General Isidro Ayora"; ubicado en la ciudad y provincia de Loja en la calle principal Avenida Iberoamericana y calle secundaria Juan José Samaniego, con segundo nivel de atención y complejidad cuenta con ambulancias, 14 máquinas de hemodiálisis y 99 camas a servicio de la comunidad; ofrece además los servicios de atención como emergencia, hospitalización, cirugía general, odontología, fisiatría, consulta externa, laboratorio clínico, imagenología, gineco-obstetricia, neonatología, pediatría, unidad de cuidados intensivos, unidad de quemados y hemodiálisis.

3. Universo

El universo de estudio estuvo constituido por 591 muestras de orina pertenecientes a usuarios del Hospital Isidro Ayora, que acudieron al Laboratorio Clínico con pedido médico de urocultivo durante el periodo de Diciembre 2017 - Abril 2018.

4. Muestra

$$\boldsymbol{n} = \frac{\boldsymbol{Z_\alpha^2 Npq}}{\boldsymbol{e^2(N-1) + Z_\alpha^2\, pq}}$$

$$\boldsymbol{n} = \frac{(2{,}57)^2\ (218)(0{,}5)(0{,}5)}{(0{,}02)^2(218-1) + (2{,}57)^2(0{,}5)(0{,}5)}$$

$$\boldsymbol{n} = \frac{(6{,}6049)(54{,}5)}{(0{,}0004)(217) + (1{,}651225)}$$

$$\boldsymbol{n} = \frac{359{,}96705}{1{,}738025}$$

$$\boldsymbol{n} = 207$$

$\boldsymbol{n}$ = Tamaño de la muestra
$\boldsymbol{Z_\alpha^2}$ = 99% de confianza (2,57)
N = universo (1487)
e = error muestral 2% (0,02)
p = 0,5 población con característica de estudio
q = 0,5 población sin característica

La muestra de estudio estuvo constituida por 207 urocultivos con crecimiento de enterobacterias pertenecientes a los usuarios del Hospital Isidro Ayora.

5. Criterios de inclusión

✓ Pacientes con pedido médico de urocultivo

✓ Cultivo primario ≥1000 UFC/ml (pacientes inmunodeprimidos, síndrome uretral femenino, punción suprapúbica o renal percutánea)

✓ Cultivos con ≥100000 UFC/ml (pacientes inmunocompetentes)

6. Criterios de exclusión

✓ Pacientes de consulta externa con antibioticoterapia instaurada o terminada 7 días antes del urocultivo.

✓ Muestras que no estén en las condiciones de conservación adecuadas (Anexo 1).

✓ Muestras con más de dos tipos de agentes bacterianos.

7. Técnicas

El desarrollo del estudio se dividió en tres etapas: etapa pre-analítica, etapa analítica y etapa post-analítica.

Etapa pre-analítica

- ✓ Se obtuvo la autorización para la ejecución del estudio (Anexo 2).
- ✓ Se informó al personal de laboratorio clínico los motivos, requerimientos y alcance del mismo; además se entregó trípticos a los médicos con las indicaciones para una correcta recolección de orina con el fin de que sean provistos a los usuarios y se garanticen los parámetros de calidad (Anexo 1).
- ✓ Se obtuvo el consentimiento informado de los usuarios que accedieron a formar parte del estudio (Anexo 3), el cual fue aprobado por el comité de bioética de Solca.
- ✓ Elaboración de ficha de recolección de datos de los pacientes (Anexo 4).

Etapa analítica

- ✓ Para dar cumplimiento al primer objetivo de la identificación de enterobacterias productoras de betalactamasas las muestras que ameritaron urocultivo fueron llevadas a microbiología y sembradas por la técnica de Kass (Anexo 5) en los medios agar sangre y McConkey.
- ✓ La identificación de bacilos gram negativos se realizó en un equipo automatizado mediante el uso de una tarjeta de identificación para Gram-Negativos (GN), que es un producto desechable de un solo uso y sirve para la identificación de bacilos Gram-Negativos fermentadores y no fermentadores clínicamente significativos (Anexo 6).
- ✓ Para dar cumplimiento al segundo objetivo sobre identificación de betalactamasas: las colonias presuntivas de betalatamasas se conservaron en medios de transporte Stuart para su confirmación mediante las técnicas de sinergia de discos y discos combinados (Anexo 7, 8 y 9).
- ✓ Se realizó el control de calidad interno con las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 (control negativo), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo); las cepas *K. pneumoniae* BAA 1705 (control positivo) y *K. pneumoniae* BAA 1706 (control negativo) para confirmación de betalactamasas de espectro extendido y de carpamenemasas respectivamente (Anexo 10).
- ✓ El control de calidad externo lo realizó el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) para asegurar la confiabilidad de los resultados (Anexo 11).

Etapa post-analítica

Los datos obtenidos fueron registrados en la base de datos del macro-proyecto (Anexo 12), al finalizar el muestreo se realizó la revisión y tabulación de los datos obtenidos y estos a su vez fueron organizados en tablas y esquemas gráficos en los que se dan respuesta a los objetivos planteados.

8. Instrumento de recolección de datos

En la tabla de recolección de datos se anotó la información personal de los pacientes y los resultados obtenidos (Anexo 13), se utilizaron hojas de registros para la confirmación de betalactamasas tipo BLEE, AmpC y Carbapenemasas (Anexo 14, 15 y 16).

9. Tabulación, análisis e interpretación de datos

Los resultados obtenidos fueron registrados en una base de datos, analizados y tabulados mediante el uso del programa informático de Microsoft Excel 2016, los cuales se presentan con sus respectivas frecuencias y porcentajes.

10. Presentación de datos

Los datos obtenidos son ilustrados mediante el uso de tablas, gráficos y cada uno con su respectiva interpretación.

f. Resultados

TABLA N° 1. ***Enterobacterias aisladas en muestras de orina de los pacientes del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***

BACTERIA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Escherichia coli	173	83,2%
Klebsiella pneumoniae	20	9,6%
Klebsiella oxytoca	2	0,9%
Proteus mirabilis	10	4,8%
Proteus penneri	1	0,5%
Serratia marsencens	1	0,5%
Enterobacter cloacae	1	0,5%
Total	**208**	**100%**

Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

En la presente tabla se puede apreciar la distribución de enterobacterias presentes en las 208 muestras y se realizó una discriminación por especie, para partir desde aquí con un valor referencial para el cumplimiento de los objetivos planteados.

TABLA N° 2. ***Enterobacterias productoras de betalactamasas aisladas en muestras de orina de los pacientes del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***

CEPAS AISLADAS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Enterobacterias productoras de betalactamasas	41	19,7%
Enterobacterias no productoras de betalactamasas	167	80,3%
Total	**208**	**100%**

Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

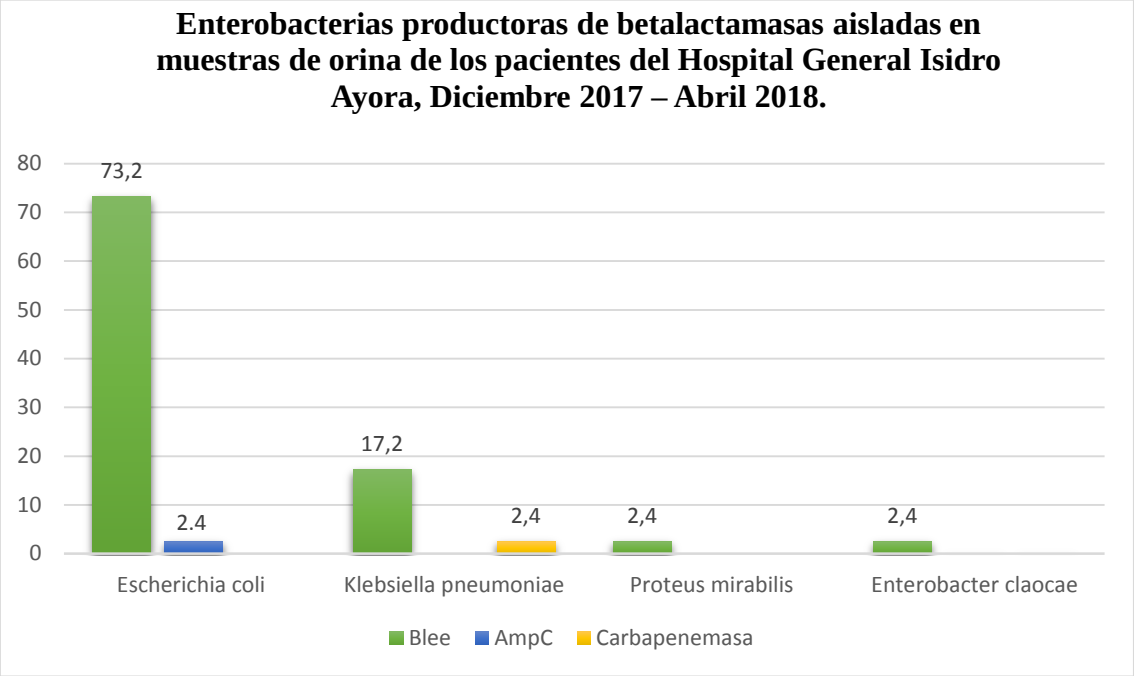
El 19,7 % de las bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae produjeron betalactamasas como mecanismo de resistencia, lo que podría deberse al uso indiscriminado de antibióticos que ha generado la creación de microorganismos multi-resistentes en la última década (Pineda, Arias, Suárez, Bastidas, & Ávila, 2017).

TABLA N° 3. ***Distribución por especies de enterobacterias productoras de betalactamasas aisladas en muestras de orina de los pacientes del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***

Enterobacterias	Blee *		AmpC*		Carbapenemasas		Total	
Escherichia coli	30	73,2%	1	2,4%	0	0%	31	75,6%
Klebsiella pneumoniae	7	17,2%	0	0%	1	2,4%	8	19,6%
Proteus mirabilis	1	2,4%	0	0%	0	0%	1	2,4%
Enterobacter cloacae	1	2,4%	0	0%	0	0%	1	2,4%
Total	39	95,2%	1	2,4%	1	2,4	41	100%

Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

FIGURA N° 1



Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

El 75,6 % de *Escherichia coli* fue capaz de producir mecanismo enzimático de resistencia a betalactámicos principalmente betalactamasas de espectro extendido con el 73,2 %; por lo tanto, las BLEE fueron el mecanismo de resistencia de mayor importancia también demostrado en el estudio realizado en el año 2017 en Argentina (Marchetti, Gonzalez, & Consutta, 2017).

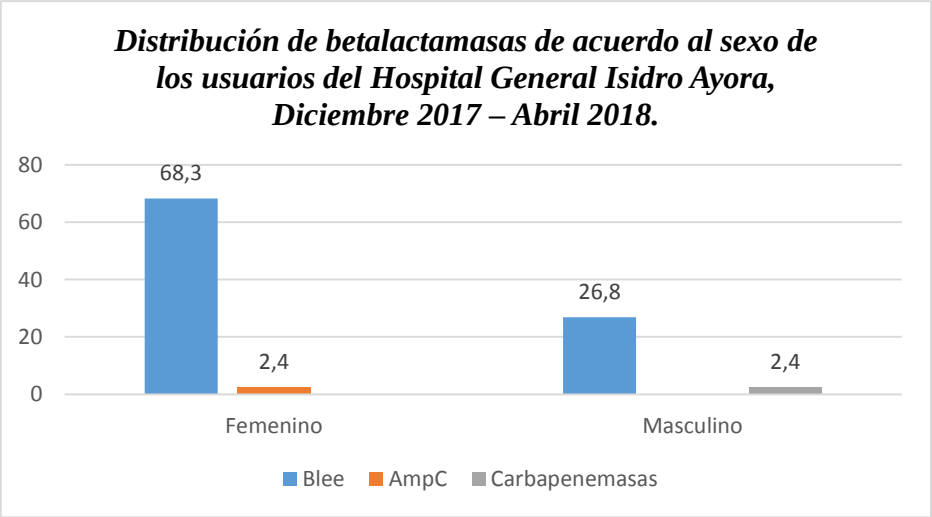
TABLA N° 4. ***Distribución de betalactamasas de acuerdo al sexo de los usuarios del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***

	Blee		AmpC		Carbapenemasa		Total	
Femenino	28	68,3%	1	2,4%	0	0%	29	70,7%
Masculino	11	26,8%	0	0%	1	2,4%	12	29,3%
TOTAL	**39**	**95,2%**	**1**	**2,4%**	**1**	**2,4%**	**41**	**100%**

***Blee:** betalactamasas de espectro extendido
***AmpC:** penicilinasas

Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Figura N° 2

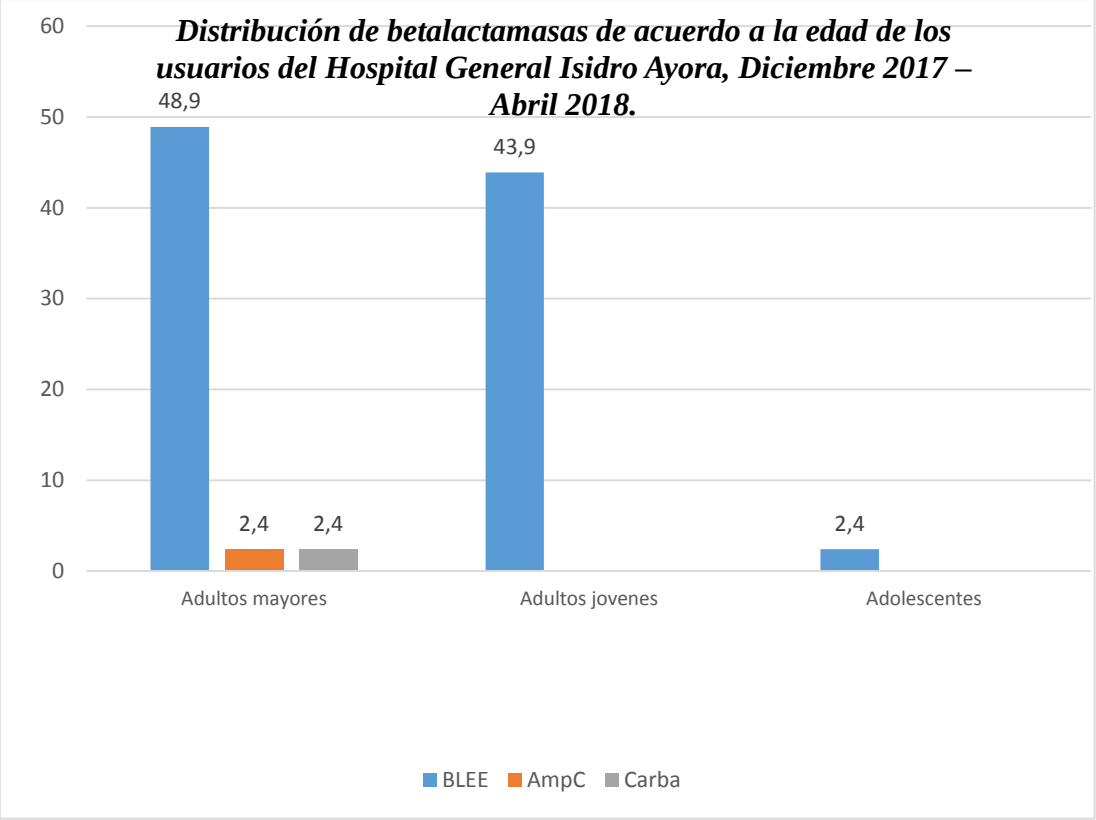


Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

El sexo femenino con 96,5 % tuvo mayor prevalencia en comparación al sexo masculino, produciendo predominantemente como mecanismo de resistencia BLEE (68,3 %), razones probablemente atribuibles a la estructura anatómica de la mujer, al igual que cambios hormonales y en algunos casos en mujeres sexualmente activas y por el contrario en hombres por la existencia de colonización secundaria del glande y prepucio tal como lo indica el autor Carlos Pigrau. (Pigrau, 2013).

FIGURA N° 3. ***Distribución de betalactamasas de acuerdo a la edad de los usuarios del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***

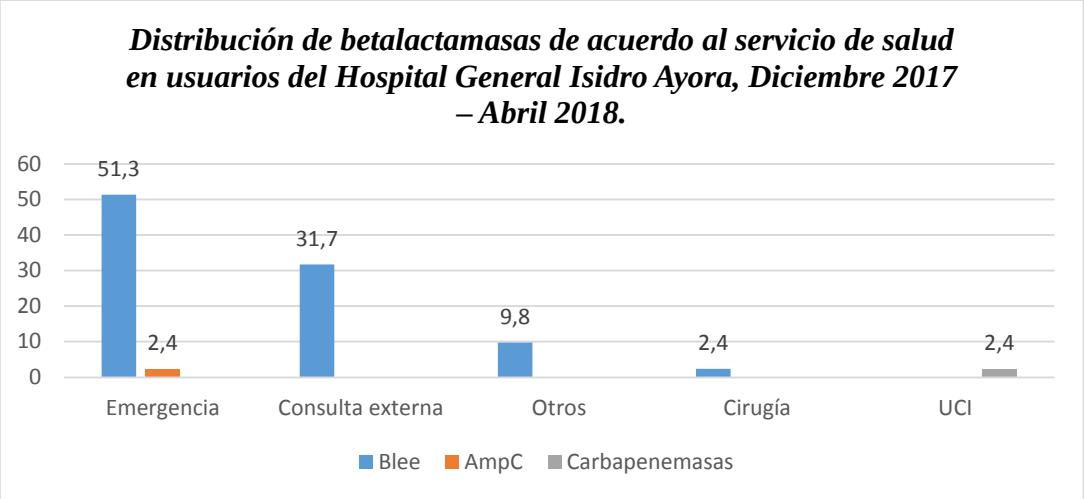


Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

En el estudio realizado se evidenciaron dos grupos etarios de mayor prevalencia a adquirir una infección de vías urinarias por enterobacterias productoras de BLEE, prevaleciendo el adulto mayor con el 48,9 % probablemente debido a los cambios fisiológicos asociados a la edad tanto en hombres como en mujeres, seguido por el grupo adulto joven con 43,9 % datos posiblemente atribuibles en mujeres principalmente a los cambios hormonales en edad menopáusica y postmenopáusica tal como lo demuestran en el estudio realizado en el "Hospital José Carrasco Arteaga", de igual forma se tomaron en cuenta grupos de neonatos, lactantes y niños los cuales no se evidenciaron en la figura por no presentar casos. (Macero & Galindo, 2017).

FIGURA N°4. ***Distribución de betalactamasas de acuerdo al servicio de salud en usuarios del Hospital General Isidro Ayora, Diciembre 2017 – Abril 2018.***



Fuente: Hoja de registros de las muestras procesadas 2017-2018
Autora: Evelyn Atancuri, 2018

Interpretación:

El servicio de emergencia tuvo predominio de cepas aisladas productoras de BLEE con 51,3 %, que puede ser atribuible a las recidivas de las infecciones por la administración de tratamientos empíricos o automedicación, lo que hace que los usuarios acudan al hospital con cuadros infecciosos de mayor complejidad, en otros se tomaron en cuenta áreas de salud de clínica y pediatría, también hubo otra clasificación para ginecología y neonatología pero en lo contrario no se evidenciaron casos razón por la cual no se encuentran representados en la figura. (Morales, y otros, 2016).

g. Discusión

La infección de vías urinarias es una de las formas más frecuentes de infección bacteriana en el ser humano, es conocida como la colonización de bacterias generalmente pertenecientes al tracto intestinal de la familia Enterobacteriaceae que afecta en mayor proporción a mujeres entre 20 y 50 años, incidencia que va aumentando tanto en hombres como en mujeres por encima de 50 años, estas infecciones son fácilmente tratadas en pacientes sanos; por el contrario causan complicaciones de mayor gravedad en pacientes inmunosuprimidos (Horna, Silva, Vicente, & Tamaris, 2005).

El estudio constó de 208 muestras de orina, la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó por métodos automatizados; la confirmación fenotípica de betalactamasas se realizó según las condiciones descritas en el Manual M100 S27 estándares de rendimiento para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; como resultados se obtuvo que *Escherichia coli* fue la especie predominantemente aislada en las muestras, el 73,2% de ellas fueron productoras de BLEE; donde los grupo más vulnerables fueron: mujeres con el 70,7 %, el grupo etario del adulto mayor (48,9 %), seguido por el adulto joven con el 43,9 %; de igual forma teniendo mayor predominio el servicio de emergencia con el 53,7 %, seguido por consulta externa con el 31,7 %.

En el año 2017 fue publicado en Panamá un estudio realizado en 4014 aislamientos de enterobacterias en infecciones de vías urinarias, el 70,1 % correspondió a *Escherichia coli* como patógeno de mayor frecuencia, seguido por *Klebsiella pneumoniae* con un valor del 18,9 %; el 24,4 % de *Escherichia coli* y 50,3 % de *Klebsiella pneumoniae* fueron productoras de BLEE datos que se diferencian con los obtenidos en este estudio en el cual de 208 urocultivos *Escherichia coli* fue el agente predominante (83,2 %) y de estas el 73,2 % fueron productoras de BLEE; lo que indica que a pesar del menor número de muestras recolectadas en nuestra población, el

mecanismo de resistencia a betalactámicos es predominante. (Leguizamón, Samudio, & Aguilar, 2017).

En 9 hospitales comunitarios de Colombia en el año 2012 se realizó un estudio para determinar la presencia de betalactamasas mediante métodos microbiológicos y moleculares con 325 aislamientos, el 83,4 % de las muestras provenientes del género femenino, en donde destaca la producción de BLEE de mayor frecuencia en comparación con penicilinasas y Carbapenemasas (KPC) aislada de una cepa de *Klebsiella pneumoniae*, la KPC se encuentra en circulación en pacientes fuera del ámbito hospitalario; estos datos corroborados con los obtenidos en este estudio, demuestran que la expresión de BLEE es el mecanismo de resistencia prevalente, por otro lado el aislamiento de KPC se realizó a partir de una cepa de *Klebsiella pneumoniae* proveniente de UCI de manera que está circunscrita en el ámbito hospitalario. (Leal, Cortés, Arias, Ovalle, & Saavedra, 2012).

En un laboratorio privado de Oaxaca – México con 1422 muestras de orina 340 de ellas presentaron crecimiento bacteriano ≥100000 UFC/mL, 288 resultaron ser *Escherichia coli*, en donde el 31,5% fueron productoras de BLEE, en las cuales las mujeres tuvieron mayor prevalencia es decir 1,4:1 en relación a hombres, datos que se asemejan a los obtenidos en este estudio donde el 70,7 % es perteneciente a mujeres y 29,3 % a hombres, lo que indica que las mujeres conforman la población mayormente afectada casos posiblemente atribuibles a su estructura anatómica . (Méndez 2018).

En Duitama – Colombia se realizó un estudio en 2 instituciones prestadoras de salud con un registro de 169 casos por patógenos portadores de BLEE, de los cuales se aisló en el 64,5 % de las muestras *Escherichia coli*, el 55,62 % pertenecientes a pacientes mayores de 65 años; el 59,2 % de género femenino, cifras que se asemejan a las obtenidas en el presente estudio, donde *Escherichia coli* fue agente predominante

productora de BLEE, los adultos mayores fueron predominantes al igual que el género femenino. (Méndez & otros 2017).

Un estudio realizado en Managua – Nicaragua con un universo de 1256 muestras provenientes de áreas de emergencia y consulta externa el 84,9% resultaron tener urocultivos crecimiento bacteriano, en donde fue *Escherichia coli* el agente con mayor prevalencia (76,6%), datos semejantes con este estudio en el cual el área de salud del que se obtuvieron un mayor número de urocultivos positivos para enterobacterias fue emergencia con el 53,7 % seguido por consulta externa con 31,7% razones posiblemente atribuibles a la automedicación y el uso de tratamientos empíricos que permiten la creación de resistencias bacterias y de esta forma dan lugar a casos de mayor complejidad. (Pavón 2013).

En el año 2015 se llevó a cabo un estudio en Colombia con una muestra considerable de 629 urocultivos positivos con datos relevantes en los que evidencian que el 68,5 % fueron de *Escherichia coli* y de estos el 12,5 % fueron productoras de BLEE, por lo contrario; estos datos relacionados con el presente estudio 83,2 % de 208 urocultivos positivos fueron aislados *Escherichia coli* y el 73,2 % de ellas fueron productoras de BLEE, lo que demuestra que en nuestra población la producción de BLEE como mecanismo de resistencia a betalactámicos es mayor pese al menor número de muestras recolectadas. (Blanco & otros 2016).

En Córdova – Argentina de 2882 urocultivos positivos en 39 de ellos se confirmó la presencia de BLEE, producidas principalmente por *Escherichia coli* 76,9 %, seguida por *Klebsiella pneumoniae* 17,9 %, al igual que en este estudio la producción de BLEE por *Escherichia coli* fue de 73,2 % y *Klebsiella pneumonaie* 17,2%, porcentajes similares, aunque la muestra de estudio fue menor, tomando en cuenta nuevamente el predominio de resistencia bacteriana en nuestra población. (Marchetti, Gonzalez, & Consutta, 2017).

h. Conclusiones

- ✓ Las especies productoras de betalactamasas fueron principalmente *Escherichia coli* con 75,6 % y *Klebsiella pneumoniae* 19,6 %, seguido por *Proteus mirabilis* 2,4 % y *Enterobacter cloacae* 2,4 %.
- ✓ El mecanismo de resistencia mayormente identificado fueron BLEE con el 95,3 %, presentes predominantemente en mujeres, en el grupo etario del adulto mayor en primer lugar, seguido por el grupo del adulto joven y provenientes del servicio de salud de emergencia.

i. Recomendaciones

- ✓ Se recomienda realizar la identificación bacteriana y sus pruebas de tamizaje observando criterios de calidad estandarizados, para que desde los laboratorios de microbiología se contribuya con resultados confiables que apoyen el tratamiento de las infecciones de vías urinarias y ayuden a prevenir la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos.

j. Referencias bibliográficas

Andreu, A., Cacho, J., Coira, A., & Lepe, J. (2010). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de tracto urinario. In Procedimientos de microbiología clínica (14th ed.). Emilia Cercenado, Rafael Catón. Obtenido de: http://cort.as/-AUlS

ARS MÉDICA. (2018). *Infección urinaria: diagnóstico y tratamiento*. Chile. Obtenido de: http://cort.as/-AUCE

Blanco, V., Maya, J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J., & Motoa, G. et al. (2016). Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica, 34(9), 559-565. doi:10.1016/j.eimc.2015.11.017

Capozzi, Enza, Rocaro, Davide Mobili, Kornett, Ana G, & Perdomo, María V. (2016). Agentes etiológicos de infecciones urinarias en adultos mayores de un centro de salud del estado Carabobo, Venezuela. Kasmera, 44(1), 35-43.

Dickinson, B. (2003). BD Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar). Instrucciones De Uso. Retrieved from http://cort.as/-AUop

Dicknson, B. (2015). BBL Simmons Citrate Agar Slats. Retrieved from http://cort.as/-AUpY

Galindo-Méndez, Mario. (2018). Molecular characterization and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli as cause of community acquired urinary tract infection. Revista chilena de infectología, 35(1), 29-35. https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000100029

Garza-Ramos, Ulises, Silva-Sánchez, Jesús, & Martínez-Romero, Esperanza. (2009). Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana. Salud Pública

de México, 51(Supl. 3), s439-s446. Recuperado en 24 de septiembre de 2018, de http://ref.scielo.org/rbzjvn

Gilman , G.. (2012). *Las bases farmacodinámicas de la Terapéutica 12º edición*. Bolivar: McGrawHill

Jawetz, M.. (2010). *Microbiología Médica 25ª edición*. : McGraw-Hill

López Velandia, D., Torres Caycedo, M., & Prada Quiroga, C. (2016). Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Universidad Y Salud*, *18*(1), 190. doi:10.22267/rus.161801.30

Laboratorios Britania S.A. (2018). Chistensen Medio (Urea Agar Base). Argentina. Retrieved from http://cort.as/-8rn4

Laboratorios Britania S.A. (2018). Lisina Hierro Agar. Argentina. Retrieved from http://cort.as/-8rn6

Leguizamón M, Samudio M, Aguilar G. Sensibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en infecciones urinarias de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital Central del IPS. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2017; 15(3): 41-49

López Velandia, D., Torres Caycedo, M., & Prada Quiroga, C. (2016). Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. Universidad Y Salud, 18(1), 190-202. https://doi.org/10.22267/rus.161801.30

Macero, R., & Galindo, T. (2017). Frecuencia de escherichia coli betalactamasa de espectro extendido (blee), en pacientes con infeccion de vías urinarias. Hospital josé carrasco arteaga. In Revista de la Facultad de Ciencias médicas (35th ed.). Cuenca. Obtenido de: http://cort.as/-AVgm

Marchetti, E., Gonzalez, L., & Cossutta, S. (2017). Prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido provenientes de urocultivos de pacientes pediatricos ambulatorios. [Ebook]. Córdova. Retrieved from http://cort.as/-AbB8

Méndez-Fandiño, Yardany Rafael, Caicedo-Ochoa, Edgar Yaset, Guio-Guerra, Santiago Alejando, Fernández-Niño, Daniel Sebastián, Urrutia-Gómez, Jorge Andrés, & Prieto, Andrea Cecilia. (2017). Caracterización clínica de infecciones de vías urinarias producidas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en Duitama (Colombia), durante 2010-2015. Infectio, 21(1), 15-18. https://dx.doi.org/10.22354/in.v21i1.636

Mérida & Moreno. (2015). *Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico*. Argentina: Editorial Médica Panamericana

Montaluisa, M. (2016). "Determinación de blee producidas por Klebsiella pneumoniae y su relación con la resistencia a los antimicrobianos" (Licenciatura). Técnica de Ambato. Obtenido de: http://cort.as/-AUiw

Morales, A., & Rosas, G., & Yarce, E., & Paredes, Y., & Rosero, M., & Hidalgo, A. (2016). Condiciones médicas prevalentes en adultos mayores de 60 años. Acta Médica Colombiana, 41 (1), 21-28.

Murray, P.. (2009). *Microbiología médica*. Barcelona: Elsevier

Navarro, F. (2012). Infección urinaria por enterobacterias portadoras de beta-lactamasa Ampc plasmídica inducible. Caso 583. Barcelona: Seimc. Obtenido de: http://cort.as/-AbB8

Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F., & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos

gramnegativos. Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica, 29(7), 524-534. doi:10.1016/j.eimc.2011.03.011

OMS. (2018). *Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo*.

Orrego-Marin, Claudia Patricia, Henao-Mejia, Claudia Patricia, & Cardona-Arias, Jaiberth Antonio. (2014). Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. Acta Medica Colombiana, 39(4), 352-358. Revisado 24 de Septiembre 2018 from http://ref.scielo.org/t2xkdp

Pavón-Gómez, Néstor Javier. (2013). Diagnóstico y tratamiento de infección de las vías urinarias en embarazadas que acuden a Emergencia y consulta externa del Hospital Bertha Calderón Roque en Managua, Nicaragua. Perinatología y reproducción humana, 27(1), 15-20. Recuperado en 25 de septiembre de 2018, de http://ref.scielo.org/n2zz42

Pérez-Cano, H., & Robles-Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Revista Médica MD, 4.5(3), 186-191. Retrieved from http://cort.as/-AUuv

Pigrau, C.. (2013). *Infecciones de Tracto Urinario*. Madrid: Salvat

Poulou, A., Grivakou, E., Vrioni, G., Koumaki, V., Pittaras, T., Pournaras, S., & Tsakris, A. (2014). Modified CLSI Extended-Spectrum β-Lactamase (ESBL) Confirmatory Test for Phenotypic Detection of ESBLs among Enterobacteriaceae Producing Various -Lactamases. Journal Of Clinical Microbiology, 52(5), 1483-1489. doi:10.1128/jcm.03361-13

Prats, G.. (2007). *Microbiología Clínica*. Bogotá: Editorial Médica Panamericana

Rivera-Jacinto, Marco, Rodríguez-Ulloa, Claudia, Huayán-Dávila, Gladys, & Mercado-Martínez, Pedro. (2011). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por

betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en Enterobacteriaceae aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú.*. Revista Medica Herediana, 22(2), 69-75. Recuperado en 24 de septiembre de 2018, de: http://cort.as/-AUsv

Romero, R.. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. México: Editorial Médica Panamericana

ROMERO L, JHOANA P., & IBARGÜEN MONDRAGÓN, EDUARDO. (2014). Sobre la resistencia bacteriana hacia antibióticos de acción bactericida y bacteriostática. Revista Integración, 32(1), 101-116. Retrieved September 27, 2018, from http://ref.scielo.org/9ytr26

Sola, M., Rodríguez, S. & Martinez, M. (2017). Infecciones urinarias *Sescam.castillalamancha.es*.

Strasinger; Lorenzo, S; M. (2016). *Análisis de orina y de los líquidos corporales 6ta edición*.: Editorial Médica Panamericana.

Universidad de la República. (2006). Temas de bacteriología y virología. Uruguay: FEFMUR.

Yuste Ara, J., del Pozo, J., & Carmona-Torre, F. (2018). Infecciones del tracto urinario. *Medicine - Programa De Formación Médica Continuada Acreditado*, *12*(51), 3020-3030. doi:10.1016/j.med.2018.03.004

k. ANEXOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 1

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Trípticos para recolección de orina

NIÑOS QUE UTILIZAN PAÑAL

Antes de la recolección:

- Retirar el pañal del lactante y lavar bien el área genital con jabón y agua y séquela.
- No utilizar desinfectantes.

Abra y coloque la bolsa de niño/a sobre los genitales de su bebe:

- Para los niños se puede colocar todo el pene dentro de la bolsa
- Para las niñas poner la bolsa sobre los labios de la vagina y colocar el pañal un poco apretado
- Observar la bolsa cada media hora. Tan pronto como orine, retirar la bolsa. Si no consigue que el niño orine en menos de una hora o la bolsa se ensucia, sustituirla por otra.
- Trasvasar la muestra dentro de un frasco recolector de orina o transladar la bolsa bien cerrada al laboratorio en un plazo máximo de 2 horas.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INDICACIONES PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE ORINA

CARACTERIZACIN MOLECULAR DE BETALACTAMASAS AISLADAS EN MUESTRAS DE ORINA PROCEDENTES DE LOS HOSPITALES ISIDRO AYORA Y SOLCA DE LOJA.

Mujeres

- Recoger la primera orina de la mañana, caso de emergencia con una retención mínima de 4 horas.
- Utilizar frasco estéril de tapón de rosca

Antes de la recolección:

Lavarse las manos con agua y jabón

Lavar la zona genital con jabón y abundante agua. Este lavado se hará siempre de adelante hacia atrás y secar con una toalla limpia

Separando con los dedos los labios mayores se recoge la parte media de la micción para esto orine primero fuera del frasco, continúe orinando directamente dentro del frasco hasta llenar aproximadamente la mitad. Cerrar el frasco anotar el nombre y apellidos del paciente. Evitar tocar el interior del recipiente

Llevar la muestra en el plazo de 2 horas al laboratorio.

Hombres

- Recoger la primera orina de la mañana, en caso de emergencia con una retención mínima de 4 horas.
- Utilizar frasco estéril de tapón de rosca

Antes de la recolección:

Lavarse las manos con agua y jabón

Lavar la zona genital con jabón y abundante agua. Este lavado se hará siempre de adelante hacia atrás y secar con una toalla limpia

Separando con los dedos los labios mayores se recoge la parte media de la micción para esto orine primero fuera del frasco, continúe orinando directamente dentro del frasco hasta llenar aproximadamente la mitad. Cerrar el frasco anotar el nombre y apellidos del paciente. Evitar tocar el interior del recipiente

Llevar la muestra en el plazo de 2 horas al laboratorio.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 2

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Autorización para el desarrollo de la investigación

Ministerio de Salud Pública

HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
Dirección Médica Asistencial

Memorando Nro. MSP-CZ7-HIAL-DI-2017-0049-M

Loja, 15 de junio de 2017

PARA: Sr. Lcdo. Angel Minos Luzon Ramirez
Responsable del Servicio de Laboratorio Clínico

ASUNTO: AUTORIZANDO DESARROLLO DE INVESTIGACIÓN.

De mi consideración:

Por medio de la presente me permito comunicar a Ud. que luego de la revisión del proyecto de investigación: "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BETALACTAMASAS AISLADAS DE MUESTRAS DE ORINA PROCEDENTES DE HOSPITALES ISIDRO AYORA Y SOLCA LOJA 2017", dirigida por la Lcda. Carmen Ullauri González docente de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNL, se autoriza el desarrollo de mencionado estudio, con el cumplimiento de todas las normas éticas y de bioseguridad del caso, por lo que solicito a Ud. se digne supervisar su proceso, recordando que está prohibido fotocopiar cualquier documento del expediente clínico, llevarlo fuera del servicio o tomar fotografías al paciente, imágenes o su entorno sin autorización del responsable del servicio, sus pacientes y/o familiares.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

HOSPITAL GENERAL "ISIDRO AYORA"
COORDINACIÓN DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

Dr. Daniel Alfredo Pacheco Montoya
SUBDIRECTOR DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

Avenida Manuel Agustín Aguirre y Juan José Samaniego
Teléfono: 2570540 ext. 7275
http://instituciones.msp.gob.ec/dps/loja/

* Documento generado por Quipux

1/1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 3

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENER MUESTRA DE ORINA QUE SE SOMETERÁ A ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MOLECULAR PARA AISLAR BETALACTAMASAS EN EL HOSPITAL SOLCA DE LOJA Y HOSPITAL ISIDRO AYORA

Historia Clínica…… Número de cédula……..
Fecha: …… Hora:……..

APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRES	
ESTADO CIVIL	NACIONALIDAD	DOMICILIO	EDAD

¿EN QUÉ CONSISTE?
Su muestra de orina que va a ser incluida en un estudio se usará para identificar las bacterias causantes de la infección y determinar la posible presencia de bacterias resistentes y ciertas sustancias (betalactamasas) que causan que las bacterias sean resistentes al tratamiento con ciertos antibióticos.
La muestra debe ser la primera orina de la mañana, o por lo menos luego de 4 horas de retención, se debe realizar lavado de los genitales con agua y jabón, luego orinar desechando el primer chorro, y recolectar el resto de la orina en un frasco estéril. Se debe llevar la muestra enseguida al laboratorio de SOLCA.
Los resultados se informarán al propio laboratorio y no tienen ningún costo extra. En caso de que su muestra de orina sea positiva para infección uno de los participantes del presente proyecto tomará una muestra de las bacterias que crecieran y las transportará hacia los laboratorios de la Universidad Nacional de Loja donde se realizará el estudio específico.
BENEFICIOS DEL ESTUDIO
Beneficiará al paciente ya que el tratamiento será instaurado o modificado por el médico correspondiente siendo éste el principal beneficio para el paciente.
EFECTOS Y RIESGOS
No existen efectos secundarios ni riesgos de ningún tipo para el paciente.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRA

Fecha: **Hora:**
Estoy de acuerdo con el procedimiento (enviar la muestra de orina para que sea sometida a estudios en el proyecto de investigación de la UNL), que se me ha propuesto; he sido informado de las ventajas e inconvenientes del mismo; se me ha explicado de forma clara en qué consiste, los beneficios y posibles riesgos del procedimiento. He escuchado, leído y comprendido la información recibida y se me ha dado la oportunidad de preguntar lo que he necesitado consultar sobre el procedimiento. He tomado consciente y libremente la decisión de autorizar el procedimiento. También conozco que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

Nombre del paciente	Firma del paciente

Firma del Responsable de la investigación

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA:
No autorizo y me niego a que se me realice el procedimiento propuesto, responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y a la intervención sugerida

Nombre completo del paciente	Cédula de ciudadanía	Nombre del Investigador

REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO
Revoco el consentimiento realizado en fecha……y no deseo que prosigan con el procesamiento de la muestra entregada, doy por finalizado en esta fecha……Asumo la responsabilidad sobre mi salud y desvinculo de responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y al profesional sanitario que me atiende.

Nombre completo del paciente	Cédula de ciudadanía	Nombre del Investigador

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 4

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Ficha de recolección de datos

Ficha Nº ___

Datos generales

Edad		**Género**		**Servicio**	
Profesión				Procedencia	

Datos específicos

Sondas, catéteres		Hospitalizado o internado		Tiempo de hospitalizado	
Hora de la toma de la muestra			Hora en que llega al laboratorio		
Tiempo de la retención urinaria					
Estado inmunológico del paciente					
¿Consume antibióticos con regularidad?			¿Porqué?		
¿Consume pollo, huevos o leche?					
Primera vez con ITU			Recurrente		
¿cumple el tratamiento?			¿Por cuánto tiempo?		
Presencia de leucocitos			Cantidad		
Código de muestra					

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 5

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Técnica Kass para siembra de urocultivos

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	**Siembra de muestra y conteo de colonias**	**CÓDIGO:** PB03 **REVISIÓN: 1 EDICIÓN:1** **FECHA:**

1. Introducción

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento bacteriano. El método más usual para la siembra es la técnica de estría en la cual podemos obtener colonias aisladas en una placa Petri a partir de un inóculo o muestra con diferentes especies. (Santambrosio, 2009)

Una colonia bacteriana es una agrupación de bacterias formada a partir de la reproducción de una Unidad Formadora de Colonia (UFC) sobre un medio sólido; aunque varía de tamaño generalmente es visible a simple vista. Las colonias bacterianas tienen una medida, forma, textura y en algunos casos color característicos, que aunque puede variar de acuerdo al medio en que se encuentren, es constante bajo condiciones controladas y depende de la especie bacteriana que la forme.

Debido a que las características de las colonias ocurren en varios grados y combinaciones dependiendo de las bacterias y son a menudo muy uniformes, sirven para identificar bacterias en cultivos mezclados. La morfología colonial es comparable a una estadística ya que se deriva de una célula individual pero es la característica de la masa celular. En una colonia pueden distinguirse varios aspectos como forma, elevación, borde, tamaño, color.

Para el conteo de colonias se usan varios métodos cuantitativos, en este caso utilizaremos el método de asa calibrada, el cual consiste contar el número de colonias desarrolladas después de incubar las siembra a 37ª C durante 24 horas, el resultado se multiplica por 100 ya que el asa de platino contiene 0,01 ml de orina.

Cuando se obtienen dos recuentos sucesivos con más de 100 000 colonias por ml., la probabilidad de infección es de 80%, cifra que se eleva a 95% si el mismo resultado se logra en tres recuentos sucesivos.

Por lo general, las muestras contaminadas tienden a mostrar cuentas inferiores a 10 000 colonias/ml. Cuando el recuento revela valores intermedios, entre 10 0000 y 100 000 colonias/ml, el examen debe repetirse. Conviene advertir que pueden pasar inadvertidas infecciones urinarias verdaderas, si no se toman en cuenta cuentas inferiores a 100 000 colonias por ml, ya que existen diversos factores que pueden explicar recuentos bajos en infecciones urinarias verdaderas, diuresis acentuada, obstrucción uretral, infecciones crónicas e infecciones por cocos grampositivos. (Lopardo, 2015)

2. Objetivo

Definir los pasos necesarios que garantice el procedimiento para siembra de muestras de orina en medios de cultivo de forma que se logre el aislamiento de bacterias y así poder diferenciar el fenómeno de hemólisis en agar sangre e identificar las características de las colonias.

3. Alcance

Este procedimiento forma parte del macroproyecto "Caracterización Molecular de Betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los Hospitales Isidro Ayora y Solca Loja" y garantizará el aislamiento e identificación de bacterias.

4. Responsables:

4.1. ESTUDIANTES: elaboración del procedimiento.
4.2. DOCENTES/INVESTIGADORES: validación del procedimiento.
4.3. COLABORADORES INSTITUCIONES PARTICICPANTES: aplicación del procedimiento de acuerdo a protocolos de los laboratorios de las instituciones participantes.

5. Materiales

Equipos

- Mecheros de bunsen
- Lámparas de alcohol con alcohol al 70%
- Incubadora

Instrumentos

- Asas de platino
- Hisopos estériles
- Soportes para las asas de platino

Insumos

- Cajas Petri con medio de cultivo elaborado
- Lápiz graso
- Guantes

Sustancias y reactivos

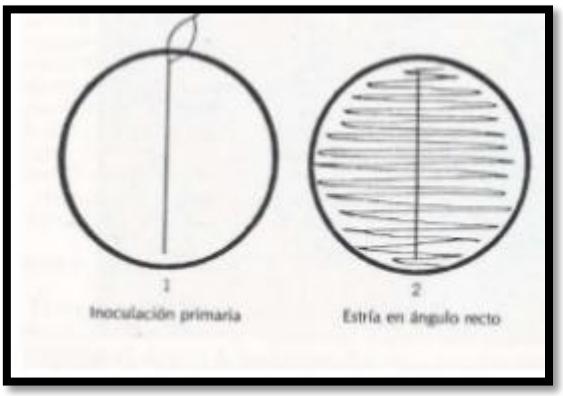
- Muestra a estudiar

6. Procedimiento

Para realizar un cultivo bacteriano es necesario:

1. Tomar el asa calibrada e introducirla al fuego para que se esterilice, dejar enfriar unos segundos y tomar la muestra que se va a estudiar,
2. La orina se mezcla bien, no se centrifuga.
3. Se usa asa calibrada de platino o de plástico (0.01 ml).
4. Se inocula la placa de agar MacConkey por estría primaria y secundaria.
5. Se incuba a 35°C, por 24 horas.
6. Se anotan las características de las colonias y el número de colonias diferentes.
7. Se cuantifican las colonias para obtener las UFC/ml. Se deben anotar todas estas características

<u>Técnica de estría</u>



<u>Lectura de cultivo en UFC/ml</u>

- Después de incubar las siembras a 37° durante 24 a 48 horas, se cuenta el número de colonias desarrolladas y el resultado se multiplica por 100, ya que el asa de platino contiene 0.01 ml. de orina.
- Los resultados del estudio cuantitativo se informan de la siguiente manera:

  - No hubo desarrollo microbiano.
  - Menos (<) de 10 000 colonias por ml.
  - Entre 10 000 y 100 000 colonias por ml.
  - Más de (>) 100 000 colonias por ml.

7. Observaciones

a. La siembra debe realizarse de la orina sin centrifugar con un asa calibrada, lo que permitirá obtener una estimación semicuantitativa del desarrollo microbiano.
b. Marcar las cajas antes de empezar a trabajar
c. No hablar durante la siembra
d. Flamear el asa antes de realizar la serie de estrías y enfriar en una orilla.
e. Las placas no se descartan si no hay crecimiento a las 24 horas, se vuelven a incubar hasta por 72 horas (observando cada 24 horas), si transcurrido el tiempo no hay crecimiento, si se descartan.

ELABORADO POR:	**REVISADO Y APROBADO:**
María de los Ángeles Ucho.	Dra. Sandra Freire Cuesta.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 6

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Contenido de métodos bioquímicos en la tarjeta GN para la identificación de bacterias gramnegativos por método automatizado.

Pocillo	Análisis	Abreviatura	Cantidad/Pocillo
2	Ala-Fe-Pro-ARILAMIDASA	APPA	0,0384 mg
3	ADONITOL	ADO	0,1875 mg
4	L-Pirrolidonil- ARILAMIDASA	PyrA	0,018 mg
5	L-ARABITOL	ARL	I 0,3 mg
7	D-CELOBIOSA	dCEL	0,3 mg
9	BETA-GALACTOSIDASA	BGAL	0,036 mg
10	PRODUCCIÓN DE H2S	H2S	0,0024 mg
11	BETA-N-ACETIL-GLUCOSAMINIDASA	BNAG	0,0408 mg
12	Glutamil Arilamidasa pNA	AGLTp	0,0324 mg
13	D-GLUCOSA	dGLU	0,3 mg
14	GAMMA-GLUTAMIL-TRANSFERASA	GGT	0,0228 mg
15	FERMENTACIÓN/GLUCOSA	OFF	0,45 mg
17	BETA-GLUCOSIDASA	BGLU	0,036 mg
18	D-MALTOSA	dMAL	0,3 mg
19	D-MANITOL	dMAN	0,1875 mg
20	D-MANOSA	dMNE	0,3 mg
21	BETA-XILOSIDASA	BXYL	0,0324 mg
22	BETA-Alanina arilamidasa pNA	BAIap	0,0174 mg
23	L-Prolina-ARILAMIDASA	ProA	0,0234 mg
26	LIPASE	LIP	0,0192 mg

Pocillo	Análisis	Abreviatura	Cantidad/Pocillo
27	PALATINOSA	PLE	0,3 mg
29	Tirosina ARILAMIDASA	TyrA	0,0276 mg
31	UREASE	URE	0,15 mg
32	D-SORBITOL	dSOR	0,1875 mg
33	SACAROSA	SAC	0,3 mg
34	D-TAGATOSA	dTAG	0,3 mg
35	D-TREALOSA	dTRE	0,3 mg
36	CITRATO (SODIO)	CIT	0,054 mg
37	MALONATO	MNT	0,15 mg
39	5-CETO-D-GLUCONATO	5KG	0,3 mg
40	Alcalinización de L-LACTATO	ILATk	0,15 mg
41	ALFA-GLUCOSIDASA	AGLU	0,036 mg
42	Alcalinización de SUCCINATO	SUCT	0,15 mg
43	Beta-N-ACETIL-GALACTOSAMINIDASA	NAGA	0,0306 mg
44	ALFA-GALACTOSIDASA	AGAL	0,036 mg
45	FOSFATASA	PHOS	0,0504 mg
46	Glicina ARILAMIDASA	GlyA	0,012 mg
47	ORNITINA DESCARBOXILASA	ODC	0,3 mg
48	LISINA DESCARBOXILASA	LDC	0,15 mg
52	BASE DESCARBOXILASA	0DEC	N/C
53	Asimilación de L-HISTIDINA	IHISa	0,087 mg
56	COURMARATO	CMT	0,126 mg
57	BETA-GLUCURONIDASA	BGUR	0,0378 mg
58	RESISTENCIA O/129 (comp.vibrio.)	O129R	0,0105 mg
59	Glu-Gly-Arg-ARILAMIDASA	GGAA	0,0576 mg
61	Asimilación de L-MALATO	IMLTa	0,042 mg
62	ELLMAN	ELLM	0,03 mg
64	Asimilación de L-LACTATO	ILATa	0,186 mg

Fuente: (Manual Vitek2 technology, 2013)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 7

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Técnica para detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Universidad Nacional De Loja **Facultad De La Salud Humana** **Laboratorio Clínico**	**IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA DE BLEE**	**CÓDIGO:** PB07 **REVISIÓN:** 1 **EDICIÓN:**1 **FECHA:** 07/11/2017

1. INTRODUCCIÓN

Las betalactamasas de espectro extendido son enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo, los bacilos Gram negativos tienen gran capacidad de producirlas; pertenecen al grupo A de Ambler y sus representantes principales son las de tipo CTX –M, PER ½, TEM ½, SHV. Son capaces de hidrolizar la mayoría de betalactámicos, monobactams, sin embargo, no afectan a carbepenémicos. Su detección puede hacerse por medios fenotípicos y moleculares, se considerarán el método de sinergia de discos y discos combinados usando controles de calidad internos y externos.

2. OBJETIVOS:

Detectar por el método de sinergia de discos y discos combinados la presencia de enzimas BLEE en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.

3. ALCANCE:

Estos métodos serán aplicados como parte del proyecto de investigación titulado: "Caracterización molecular de betalactamasas aisladas de muestras de orina

procedentes del Hospital Isidro Ayora y SOLCA de Loja" y se realizarán a todas las cepas bacterianas presuntivas de expresar betalactamasas, aquellas que tengan una CMI de > = a 1 ug/ml de ceftazidime, aztreonam o ceftriaxona.

4. RESPONSABLES:

Docente(s)/Investigador (es): Indicaciones, procesamiento y validación de resultados. Reporte y entrega de resultados a Coordinador de los laboratorios participantes

Colaborador en cada hospital: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas BLEE

Estudiantes: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas BLEE y procesamiento.

5. MATERIALES:

- ✓ Hisopos estériles
- ✓ Tubos de Ensayo con 3 ml de suero fisiológico estéril
- ✓ Agar Mueller – Hinton
- ✓ Densitómetro
- ✓ Cultivo de bacterias
- ✓ Gasas
- ✓ Gradilla
- ✓ Pinzas metálicas
- ✓ Lámpara de alcohol
- ✓ Contenedores para desechar materiales cortopunzantes, especiales, comunes e infecciosos.
- ✓ Cabina de seguridad biológica
- ✓ Incubadora de 35°C

<u>Sinergia de discos:</u>

- ✓ Cefotaxime
- ✓ Ceftazidime
- ✓ Cefepime
- ✓ Aztreonam
- ✓ Amoxicilina-ácido clavulánico

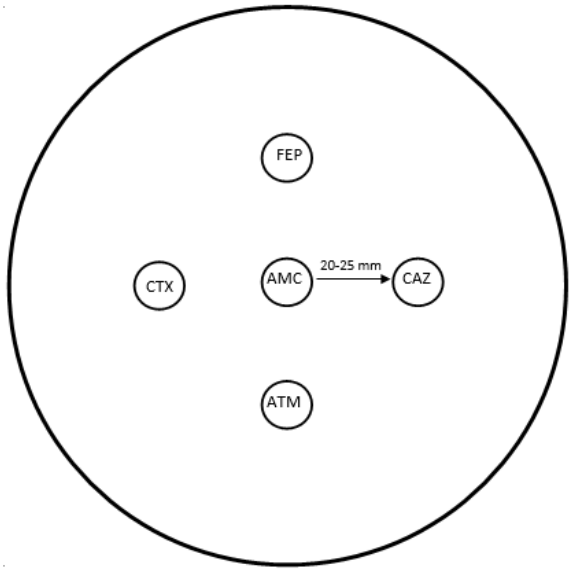
Discos combinados:

- ✓ Ceftazidime 30 ug
- ✓ Ceftazidime + Ác. Clavulánico 30/10 ug
- ✓ Cefotaxime
- ✓ Cefotaxime + Ác. Clavulánico 30/10 ug

6. PROCEDIMIENTO:

-Sinergia de Discos:

1. Preparar los materiales que se van a utilizar.
2. Rotular los tubos y la caja Petri con Agar Mueller – Hinton a utilizar.
3. Tomar con un hisopo estéril una colonia del cultivo y suspenderla en solución salina.
4. Medir en el densitómetro la turbidez del inóculo, que debe ser equivalente a 0,5 en la escala McFarland, tener precaución de limpiar con gasa estéril el fondo del tubo.
5. En caso de ser menor a 0,5 McFarland se procederá a tomar otra colonia y disolver hasta llegar a la escala indicada.
6. En caso de ser mayor a 0,5 McFarland se procederá a agregar solución salina estéril al inóculo.
7. Impregnar el hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones. Dejar reposar de 3 a 5 minutos.
8. A continuación, se colocan los discos utilizando una pinza previamente flameada y fría y colocar los discos de cefotaxime, ceftazidime, cefepime y aztreonam a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con amoxicilina-ácido clavulánico. La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa. En este sentido, solo para *Proteus mirabilis* se recomienda una distancia de 40-45 mm.



9. Finalmente se coloca en la incubadora con una temperatura de 35ºC y se realiza la lectura dentro de las 16-20 horas siguientes.

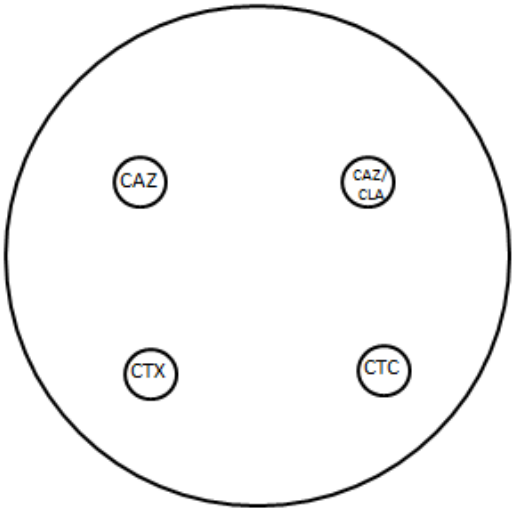
10. Repetir el mismo proceso con la cepa control positivo y negativo.

-Discos combinados:

1. Preparar los materiales que se van a utilizar
2. Rotular el tubo de ensayo y la caja Petri con Agar Mueller – Hinton a utilizar
3. Dispensar 3ml de solución salina en un tubo de ensayo
4. Tomar con un hisopo estéril una colonia del cultivo y suspenderla en solución salina.
5. Medir en el densitómetro la turbidez del inóculo, que debe ser equivalente a 0,5 en la escala McFarland, tener precaución de limpiar con gasa estéril el fondo del tubo
6. En caso de ser menor a 0,5 McFarland se procederá a tomar otra colonia y disolver hasta llegar a la escala indicada.
7. En caso de ser mayor a 0,5 McFarland se procederá a agregar solución salina al inóculo.
8. Impregnar el hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar

Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones. Dejar reposar de 3 a 5 minutos.

9. A continuación, se colocan los discos utilizando una pinza previamente flameada y fría y colocar los discos de Ceftazidime 30 ug, Ceftazidime + Ác.Clavulánico 30/10 ug, Cefotaxime, Cefotaxime + Ác. Clavulánico 30/10 ug.



10. Finalmente se coloca en la incubadora con una temperatura de 35ºC +/- 2ºC y se realiza la lectura dentro de las 10 a 18 horas.
11. Repetir el mismo proceso con la cepa control positivo y negativo.

7. OBSERVACIONES:

Reporte:

Para todas las cepas productoras de ESBL confirmadas:

Reportar el nombre de la bacteria más productora de BLEE; ya que se usan los puntos de corte actuales de cefalosporina y aztreonam; por lo tanto, la interpretación de la prueba debe informarse como resistente para todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.

Discos combinados:

Medir en milímetros los diámetros de las zonas de inhibición completas (incluyendo el diámetro del disco).

Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

a) Positivo. Incremento del diámetro de inhibición de ceftazidime, cefotaxime o cefepime en presencia de ácido clavulánico ≥5 mm respecto al de la cefalosporina correspondiente sin ácido clavulánico

b) Negativo. No incremento o diferencia <5 mm en los halos de inhibición de las cefalosporinas con ácido clavulánico respecto a los de las cefalosporinas correspondientes sin ácido clavulánico. Los resultados positivos se interpretan según la tabla:

Mecanismo de resistencia	CTX	CTX+CLA	CTX+CLO	
BLEE	CTX+CLA o	≥ 5 mm	-	-
	CTX+CLA+CLO	-	< 4 mm	≥ 5 mm

Nota: Comparar siempre con el control positivo y negativo

Sinergia de Discos:

Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

a) Positivo. Ampliación del halo de inhibición de cefotaxime, ceftazidime, cefepime o aztreonam en la zona próxima al disco con amoxicilina-ácido clavulánico (sinergia) o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas o

aztreonam y el inhibidor. Usualmente el halo se deforma adquiriendo formas ovaladas o con cola de pescado.

b) Negativo. No ampliación de los halos de inhibición de cefotaxime, ceftazidime, cefepime o aztreonam ni presencia de "zona fantasma".

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CLSI. (2017). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.*

SEIMC. (2015). *Procedimientos en Microbiología Clínica.*

ELABORADO POR:	REVISADO Y APROBADO POR:
• Edgar Jara • Diana Ramón • Sthefany Torres	Lcda. Carmen Ullauri

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 8

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Técnica para de AmpC

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	**IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA DE AmpC**	**CÓDIGO:** PB07 **REVISIÓN: 1 EDICIÓN:1** **FECHA: 07/11/2017**

1. INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO:

Betalactamasas AmpC: Son enzimas que cuando algunas bacterias las portan o producen generan resistencia a ciertos antibióticos betalactámicos hasta las cefalosporinas de amplio espectro, pueden ser constitutivas o plasmídicas en cuyo caso tienen más potencial de diseminación, pertenecen al grupo C de Ambler y entre las más importantes tenemos a CIT, DHA, FOX, CMY, MIR.

Las AmpC cromosómicas inducibles están presentes en enterobacterias como: *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp*, *Providencia spp*. *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, bacterias en las que cuando está presente el mecanismo de resistencia de pérdida de permeabilidad puede confundir el patrón con una BLEE. Se realizará la detección con el uso de sinergia y aproximación de discos.

2. OBJETIVO:

Detectar por los métodos de sinergia y aproximación de discos, la presencia de enzimas de tipo AmpC plasmídicas en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.

3. ALCANCE:

Estos métodos serán aplicados como parte del proyecto de investigación titulado: "Caracterización molecular de betalactamasas aisladas de muestras de orina procedentes del Hospital Isidro Ayora y SOLCA de Loja" y se realizarán a todas las cepas

bacterianas presuntivas de expresar enzimas AmpC que tengan la disminución de sensibilidad o resistencia a cefotaxima con una CIM >= 1 ug / ml y la R a cefoxitina, son resistentes también a los inhibidores de betalactamasas.

4. RESPONSABLES:

4.1 Docente(s)/Investigador (es): Indicaciones, procesamiento y validación de resultados, reporte y entrega de resultados a Coordinador de los laboratorios participantes

4.2 Colaborador en cada hospital: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas AmpCp y procesamiento.

5. MATERIALES

- Cefotaxima (30 ug)
- Ceftazidima (30 ug)
- Cefoxitina (… ug)
- Ácido fenil borónico (400 µg)
- Hisopos estériles
- Tubos con 3ml de suero fisiológico estéril
- Densitómetro
- Gradilla
- Placas de agar Mueller Hinton
- Pinzas metálicas
- Lámpara de alcohol
- Contenedores para desechar materiales cortopunzantes, especiales, comunes e infecciosos.
- Cabina de seguridad biológica
- Incubadora de 35°C
- Agitador tipo vórtex

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Prueba de sinergia de doble discos

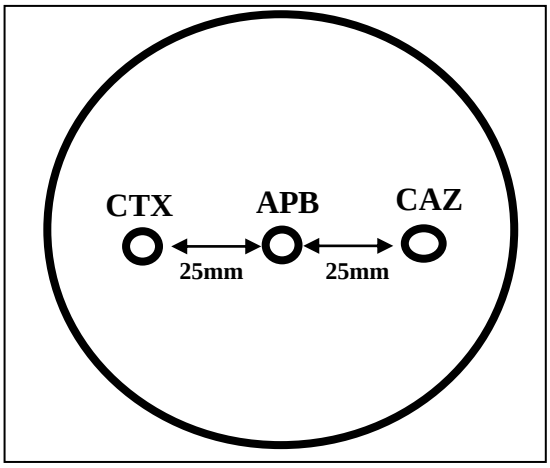
6.1.1 Rotular con el número de muestra un tubo con 3 ml de suero fisiológico o agua destilada estéril por cada cepa en cultivo puro al que se le vaya a realizar la determinación.

6.1.2 Inocular y resuspender homogéneamente cada tubo de suero fisiológico con una colonia del microorganismo problema hasta conseguir una turbidez del 0,5 MacFarland, ajustar si es necesario.

6.1.3 Impregnar un hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones. Dejar reposar de 3 a 5

6.1.4 Utilizando unas pinzas previamente flameadas y frías situar un disco con cefotaxima y un disco con ceftazidima a una distancia de 20 - 25 mm (centro a centro) de un disco con ácido borónico. La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa.

6.1.5 Incubar de 35-37ºC durante 16-20 horas (Ardanuy, Cercenado, Morosini, & Torres, 2011).



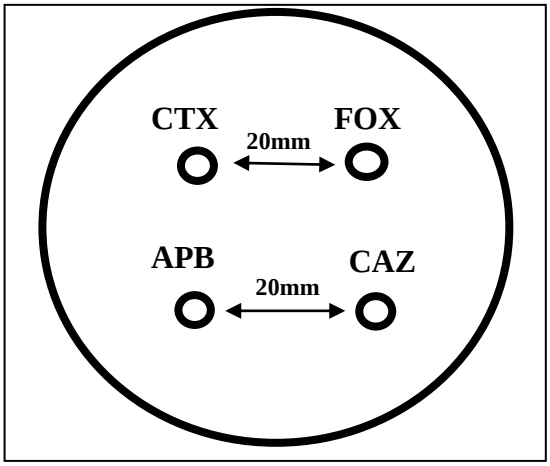
6.2 Prueba de aproximación de discos (antagonismo)

6.2.1 Realizar el mismo procedimiento anterior hasta el literal (6.1.3).

6.2.2 Utilizando unas pinzas previamente flameadas y frías situar en la parte superior un disco con cefotaxima y un disco con cefoxitina a una distancia de 20 mm (borde a borde), y en la parte inferior un disco con ácido fenil borónico y un

disco con ceftazidima a una distancia de 20 mm (borde a borde). La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa.

6.2.3 Incubar de 35-37ºC durante 16-20 horas.



Consideraciones:

- Hay que tener en cuenta los diámetros de inhibición con el fin de ajustar la distancia de separación entre los discos.
- En el caso enterobacteriaceae se usa cefotaxime, y en el caso de bacilos no fermentadores se utilizará cefatazidima en lugar de cefotaxime.

NOTA: Si se trata de una AmpC cromosómica inducible que están presentes en enterobacterias como: *Citrobacter freundii, Enterobacter spp, Providencia spp. Morganella morganii, Serratia marcescens* realizar el mismo procedimiento, pero utilizando una cefalosporina de cuarta generación como Cefepime.

7. OBSERVACIONES:

La interpretación de los resultados de la prueba de sinergia de doble discos se realizará de la siguiente manera: Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición.

- ✓ Positivo: Ampliación del halo de inhibición de cefotaxima o ceftazidima en la zona próxima al disco con cloxacilina o ácido borónico (sinergia)o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor.
- ✓ Negativo: No ampliación de los halos de inhibición de las cefalosporinas ni presencia de "zona fantasma".

  El resultado positivo se informará como cepa portadora de AmpCp.

NOTA:

Colocar los desechos en los contenedores correspondientes: Desechos cortopunzantes, comunes, especiales e infecciosos.

7.1 La interpretación de los resultados de aproximación de discos (antagonismo) se realizará de la siguiente manera: Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición.

- ✓ Positivo: Se observa un achatamiento del halo (D invertida) de cefotaxima o ceftazidima en la zona próxima al disco con cefoxitina y en el caso de sinergia se observa una deformación del halo d ela cefalosporina hacia el ácido fenil borónico.
- ✓ Negativo: No se observa achatamiento ni deformación del halo de inhibición de las cefalosporinas.

El resultado positivo se informará como cepa portadora de AmpC.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Ardanuy, C., Cercenado, E., Morosini, M., & Torres, C. (2011). *Deteccion Fenotipica de Mecanismos de Resistencia en Gram Negativos* . Obtenido de https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia39.pdf

Bou, G., Chávez, F., Oliver, A., & Jesús, O. (2015). *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Obtenido de http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia55.pdf

ELABORADO POR:	**REVISADO Y APROBADO POR:**
• Atancuri Evelyn • Cisneros María • Ontaneda Alex	Lic. Carmen Ullauri

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 9

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Técnica para detección de carbapenemasas

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	**Identificación fenotípica de carbapenemasas.**	**Código: PB-06** **Revisión: 1 Edición: 1**

1. Introducción:

Las carbapenemasas son enzimas que confieren resistencia a todos los antibióticos betalactámicos, las enterobacterias que las producen constituyen una emergencia ya que el tratamiento se restringe a muy pocas y tóxicas opciones terapeúticas.

Pueden ser serin betalactamasas o metalobetalactamasas según tengan en su sitio activo serina o zinc; pertenecen al grupo A, B y D de Ambler y sus principales representantes son KPC – IMI –SME, VIM, IMP, NDM y OXA respectivamente. Se considerarán para su detección método de sinergia de discos, discos combinados, inactivación de carbapenémicos y método colorimétrico.

2. Objetivos:

- Identificar por el método de sinergia de discos y discos combinados la presencia de enzimas carbapenemasas en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.
- Detectar por el método de inactivación de carbapenémicos y colorimétrico la presencia de enzimas carbapenemasas en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.

3. Alcance:

Estos métodos serán aplicados como parte del proyecto de investigación titulado: "Caracterización molecular de betalactamasas aisladas de muestras de orina procedentes del Hospital Isidro Ayora y SOLCA de Loja" y se realizarán a todas las cepas bacterianas presuntivas de expresar carbapenemasas, aquellas que tengan una CMI de > = a 1 ug/ml para meropenem, >= 2 ug/ml de imipenem para Enterobacterias; en el caso de Acinetobacter una CIM de >= 4 ug / ml para imipenem y en el caso de Pseudomona aeruginosa se usarán puntos de corte de ceftazidime > = 16 ug/ml; > = a 1 ug/ml para meropenem, >= 2 ug/ml de imipenem.

4. Responsables:

Docente(s)/Investigador (es): Indicaciones, procesamiento y validación de resultados. Reporte y entrega de resultados a Coordinador de los laboratorios participantes

Colaborador en cada hospital: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas carbapenemasas

Estudiantes: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas carbapenemasas y procesamiento.

5. Materiales:

4.1 Materiales para el método de sinergia de doble disco:

- Tubo de ensayo con 3ml de solución salina esteril
- Caja de Petri con medio Muller-Hinton
- Hisopo estéril
- Densitómetro
- Lámpara de alcohol
- Pinza metálica
- Disco con Meropenem (10 µg)
- Disco con EDTA (1000 µg)
- Disco con Ácido Fenilborónico
- Incubadora
- Guardián

4.2 Materiales para el método de discos combinados con inhibidor:

- Tubo de ensayo
- Caja de Petri con medio Muller-Hinton
- Solución salina estéril.
- Hisopo estéril
- Densitómetro
- Lámpara de alcohol
- Pinza metálica
- Disco Meropenem (10 µg)
- Disco de Meropenem /àcido borònico(10/600 µg)
- Disco con Meropenem/EDTA (10/1000 µg)
- Disco con Meropenem/cloxacilina (10/500-750 µg)
- Incubadora
- Guardián

4.3 Materiales para el método inactivación de carbapenemasas:

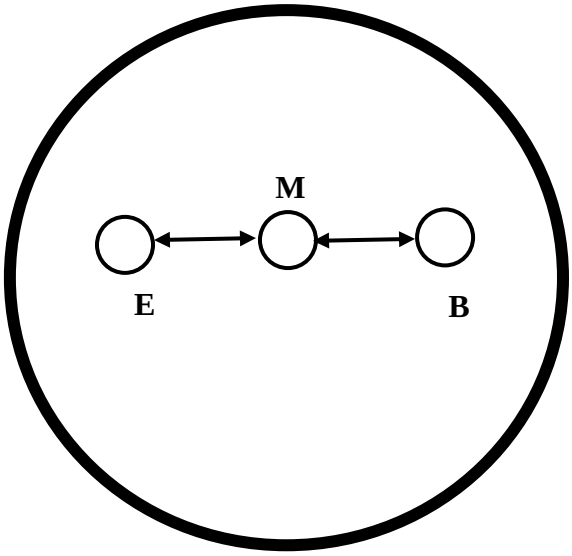
- TSB (alícuotas de 2 ml)
- Discos Meropenem (10 µg)
- Asas de inoculación (1-uL o 10-µL).
- Solución salina esteril
- Placas agar Mueller Hinton.(MHA)
- Cepa *E. coli* (ATCC 25922).
- Tubos Eppendorf

6. Procedimiento:

6.1. Procedimiento para el método de sinergia de doble disco:

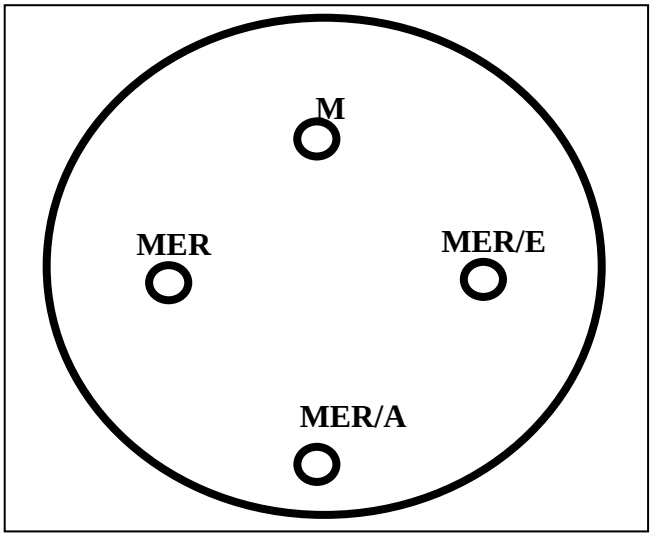
- Rotular con el código correspondiente el tubo de ensayo con suero fisiológico estéril y la caja de Petri con Muller-Hinton.
- Tomar con un hisopo estéril de 2 a 3 colonias de un cultivo puro de la muestra problema.
- Transferir las colonias al tubo de ensayo que contiene la solución salina estéril y suspender las colonias en esta solución
- Ajustar la turbidez de la suspensión en el densitómetro al 0,5 McFarland.

- Sumerja un hisopo de algodón estéril en la suspensión ajustada, elimine el exceso de líquido presionando firmemente contra las paredes internas del tubo por encima del nivel del líquido.
- Inocular antes de 15 minutos después de haber ajustado la suspensión.
- Tomar la caja de Petri por la base e inocular la superficie seca de una placa de agar Mueller-Hinton estriando con el hisopo toda la superficie del agar estéril.
- Repetir este procedimiento estriando dos veces más el hisopo, rotando la placa aproximadamente 60º cada vez para asegurar una distribución homogénea del inóculo.
- Finalmente, se debe estriar el hisopo por el borde del agar.
- Dejar reposar 5 minutos antes de colocar los discos.
- Esterilizar una pinza a la llama de la lámpara de alcohol.
- Tomar con la pinza estéril el disco de Meropenem y colocarlo en la superficie del agar ya inoculado.
- Nuevamente se esteriliza la pinza y se toma un disco con inhibidor EDTA y se lo coloca a una distancia de 1 o 2 cm (margen a margen) del disco de Meropenem.
- Repetir la esterilización de la pinza y realizar el mismo proceso para colocar el disco con inhibidor que contiene ácido fenilborónico.
- Incubar a temperatura de 35 ± 2 °C, durante 16-20 horas.
- Realizar el protocolo con las cepas control positivo y negativo.



6.2. Procedimiento para el método de discos combinados con inhibidor

- Rotular con el código correspondiente el tubo de ensayo con suero fisiológico estéril y la caja de Petri con Muller-Hinton.
- Tomar con un hisopo estéril de 2 a 3 colonias de un cultivo puro de la muestra problema.
- Transferir las colonias al tubo de ensayo que contiene la solución salina estéril y suspender las colonias en esta solución
- Ajustar la turbidez de la suspensión en el densitómetro al 0,5 McFarland.
- Sumerja un hisopo de algodón estéril en la suspensión ajustada, elimine el exceso de líquido presionando firmemente contra las paredes internas del tubo por encima del nivel del líquido.
- Inocular antes de 15 minutos después de haber ajustado la suspensión.
- Tomar la caja de Petri por la base e inocular la superficie seca de una placa de agar Mueller-Hinton estriando con el hisopo toda la superficie del agar estéril.
- Repetir este procedimiento estriando dos veces más el hisopo, rotando la placa aproximadamente 60º cada vez para asegurar una distribución homogénea del inóculo.
- Finalmente, se debe estriar el hisopo por el borde del agar.
- Dejar reposar 5 minutos antes de colocar los discos.
- Esterilizar una pinza a la llama de la lámpara de alcohol.
- Tomar con la pinza estéril el disco de Meropenem y colocarlo en la superficie del agar ya inoculado.
- Repetir la esterilización de la pinza y se toma un disco de meropenem/cloxacilina, meropenem/ácido fenilborónico y meropenem/EDTA
- Incubar a temperatura de 35 ± 2 °C, durante 16-20 horas.



6.3. Procedimiento para el método inactivación de carbapenemasas:

- Rotular los tubos Eppendorf para cada aislamiento a ensayar, y emulsionar bacterias (1 µL) de una placa de agar sangre con cultivo puro de la bacteria problema (se necesita cultivo fresco) en 2 ml de TSB y vórtexear por 10-15 segundos.
- Agregar un disco meropenem de 10 µg a cada tubo Eppendorf usando pinzas estériles, y asegurarse que todo el disco esté sumergido en la suspensión.
- Incubar a 35 ± 2 ° C en atmosfera ambiental durante 4 horas ± 15 minutos.
- Después de completar la incubación de la suspensión, preparar la suspensión 0.5 de McFarland (usando el método directo) de *E. coli* ATCC 25922 en solución salina estéril.
- Inocular una placa MHA con la suspensión preparada, antes de los 15 minutos y dejar reposar 5 minutos antes de colocar los discos de meropenem.
- Sacar el tubo Eppendorf de la incubadora, remover el disco de meropenem usando una asa estéril presionando la parte plana del asa contra una de las paredes del disco usando la tensión superficial para sacar el disco fuera del líquido, no olvide presionar el disco contra la pared del tubo para eliminar el exceso de líquido, luego colocarlo en la placa MHA previamente inoculada con la cepa *E. coli* ATCC 25922 susceptible a meropenem. Capacidad de las cajas: 4 discos en una placa MHA de 100 mm.

- Invertir e incubar las placas MHA a 35 ° C ± 2 ° C en el aire ambiente durante 18-24 horas, después de la incubación, medir las zonas de inhibición como para el método rutinario de difusión de disco.
- Realizar el protocolo con las cepas control positivo y negativo.

7. Observaciones:

7.1. Interpretación de resultados para el método de sinergia de doble disco:

Se reportara el resultado de la siguiente manera:

- **Positivo:** ampliación del halo de inhibición del carbapenémico en la zona cercana al disco de inhibidor (sinergia) o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre el carbapenémico y el inhibidor

Resultado	**Tipo de Carbapenemasa/Mecanismo de resistencia**
Sinergia carbapenémico- ácido borónico	**Carbapenemasa de Clase A Serincarbapenemas:** KPC, SME, NMC-A, IMI, PER, GES, SFO, SFC, IB **y/o Hiperproducción de AmpC**
Sinergia carbapenémico-ácido dipicolínico o Sinergia carbapenémico-EDTA	**Carbapenemasa de Clase B Metalo β-lactamasas:** VIM, GIM, SIM, NDM, IMP y SPM.

***Fuente**: SEIMC 2011*

- **Negativo:** No ampliación de los halos de inhibición del carbapenémico ni presencia de "zona fantasma".

7.1.1. Reporte de resultados:

- **SME/NMC:** No se recomienda el uso de penicilinas, cefalosporinas (1ra y 2da generación) y carbapenems independientemente de la sensibilidad in vitro. Opciones de tratamiento (requieren demostrar sensibilidad): amoxicilina/clavulánico, piperacilina-tazobactam, cefalosporinas de 3ra y 4ta generación, y monobactames (demostrar ausencia de BLEE asociada) y agentes no betalactámicos.
- **KPC:** No se recomienda el uso de penicilinas, cefalosporinas (todas las generaciones), monobactames y carbapenemes

independientemente de la sensibilidad in vitro**.** Opciones de tratamiento (requieren demostrar sensibilidad): amoxicilina/clavulánico, piperacilina-tazobactam, y aagentes no betalactámicos.

- **MBL:** No se recomienda el uso de penicilinas, cefalosporinas (todas la generaciones), monobactames y carbapenemes independientemente de la sensibilidad in vitro. Opciones de tratamiento (requieren demostrar sensibilidad): monobactaames, piperacilina-tazobactam, y agentes no betalactámicos.

Nota. Para todos las carbapenemasas, se recomienda aislamiento del paciente

7.2. Interpretación de resultados para el método de discos combinados con inhibidor:

7.2.1. Obtención y expresión de resultados: Medir en milímetros los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco) con un pie de rey. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

- **Positivo**: Incremento ≥5 mm del diámetro de inhibición del carbapenémico con inhibidor respecto al del carbapenémico.
- **Negativo**: No hay diferencia o incremento <5 mm en el halo de inhibición del carbapenémico con inhibidor respecto al del carbapenémico.

Los resultados positivos se interpretan según la tabla siguiente:

Resultado	**Tipo de Carbapenemasa/Mecanismo de resistencia**
CAR+BOR ≥ 5mm CAR y CAR+CLO < 5mm CAR[1]	Carbapenemasa de Clase A: KPC, SME, NMC-A, IMI, PER, GES, SFO, SFC, IB
CAR+DPA ≥ 5mm CAR CAR+EDTA ≥ 5mm CAR	Carbapenemasa de Clase B: VIM, GIM, SIM, NDM, IMP y SPM.
CAR+BOR y CAR+CLO ≥ 5mm CAR	Hiperproducción de AmpC o Hiperproducción de AmpC + Carbapenemasa de Clase A

***Fuente**: CLSI 2017*

7.2.2. Limitaciones del procedimiento:

Los métodos basados en la utilización de ácido borónico pueden presentar baja especificidad y pueden producirse resultados falsos positivos debido a la hiperproducción de enzimas de tipo AmpC ya que también es un inhibidor de estas enzimas. Adicionalmente, los métodos fenotípicos resultan inadecuados para la detección de las carbapenemasas tipo OXA.

7.3. Reporte de resultados para el método inactivación de carbapenemasas.

7.3.1. Interpretación de resultados:

- **Carbapenemasa positiva:** Halo de 6-15 mm o presencia de colonias intrahalo en una zona de 16-18 mm. Si el aislado de prueba produce carbapenemasa, el meropenem del disco se hidrolizará y no habrá inhibición o inhibición limitada del crecimiento de la *E. coli* ATCC 25922 susceptible a meropenem.
- **Carbapenemasa negativa:** Halos igual o mayores a 19 mm. Si el aislado de prueba no produce carbapenemasa, el meropenem del disco no se hidrolizará e inhibira el crecimiento de *E. coli* susceptible a meropenem ATCC 25922.
- **Indeterminado:** Zona 16-18 mm. La presencia o ausencia de una carbapenemasa no se puede confirmar por este método.

7.3.2. Reporte de resultados:

- **Positivo:** "Carbapenemasa detectada".
- **Negativo:** "Carbapenemasa no detectada".
- **Indeterminado:** "Pruebas no concluyentes por la presencia de carbapenemasa. Llamar al laboratorio para hablar".

8. Referencias bibliográficas:

- CLSI. (2009). Normas para realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos con discos. USA.
- CLSI, C. a. (2017). Normas de Desempeño para las Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana 27ª ed. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, Complemento CLSI M100. Wayne, PA.

- SEIMC. (2011). *Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos*. Obtenido de Procedimientos en Microbiología Clínica - Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: http://cort.as/-AV5n
- SEIMC. (2015). *Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes.* Obtenido de Procedimientos en Microbiología Clínica - Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: http://cort.as/-AV5s

ELABORADO POR:	**REVISADO Y APROBADO POR:**
• Atancuri Evelyn • Cisneros María • Ontaneda Alex	Lic. Carmen Ullauri

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

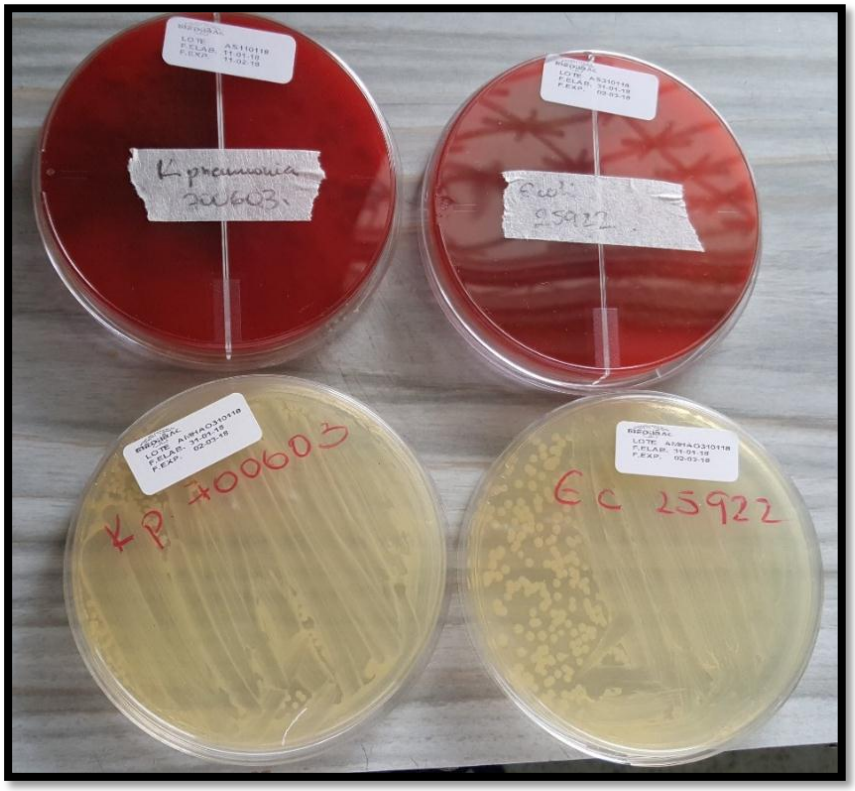
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 10

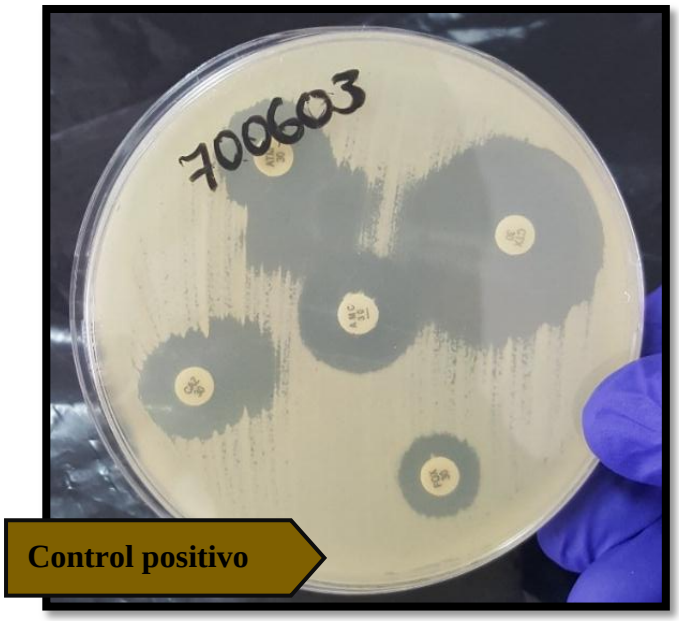
Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

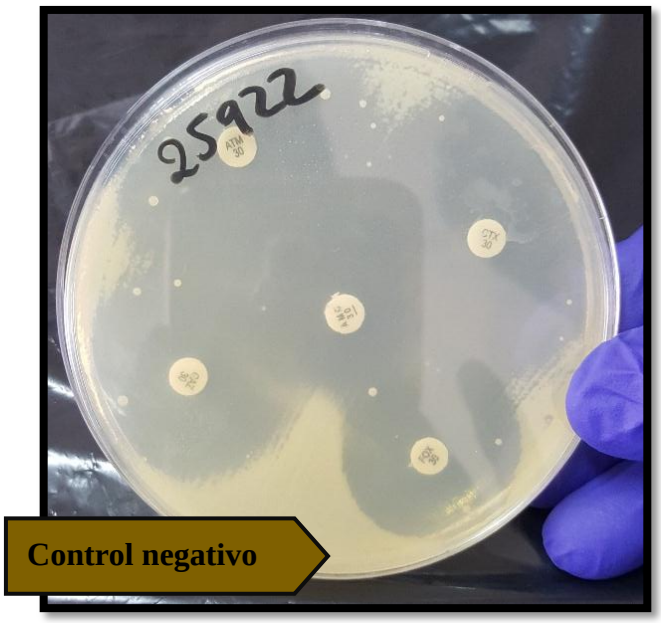
Control de calidad interno



***Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo) - *Escherichia coli* ATCC 25922 (control negativo)**

Cepas control para confirmación de betalactamasas de espectro extendido





Cepas control para confirmación de carbapenemasas BAA 1705 (+), BAA 1706 (-)

Control positivo

Control negativo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 11

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

***Control de calidad externo (*INSPI Cuenca)**

Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI
Dr. Leopoldo Izquieta Pérez

FORMULARIO DE ENVÍO DE CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES A LOS ANTIMICROBIANOS		Código:	F-RAM-001
		Edición:	03
Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	**Proceso Interno:** Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha de Aprobación:	29/12/2017

Institución Remitente: Universidad Nacional de Loja. Fecha de envío: 04-01-2018.
Fecha / Hora de aislamiento: 27-diciembre 2017 Responsable de envío: Carmen Villavicencio
Correo *Institucional:* carmen.villavicencio@unl.edu.ec. *Número Telefónico:* 0994792263.

DATOS DEL PACIENTE:
Nombres y Apellidos: Efraín Alberto Cabrera Toledo. CI: 1100629953.
Edad: 64 Género: ◯ Femenino ☒ Masculino Fecha de ingreso al servicio: HC:
Hospitalización / Servicio: Terapia Antimicrobiana:
☒ Ambulatorio ☐ Emergencia ☐ UCI Diagnóstico del Paciente:

MOTIVO DE DERIVACIÓN:
☐ Identificación de Cepa ☐ Confirmación Resistencia / Mecanismo Otro:

DATOS DE LA CEPA:
Género: Klebsiella Especie: pneumoniae Código Laboratorio: 1227026 Tipo de muestra: orina.
Mecanismo de resistencia inferido: AmpC + BLee.
MEDIOS DE TRANSPORTE: ☐ Stuart ☐ Agar Ntritivo Otro:

Antibiótico	Concentración	Halo en mm	Antibiótico	Concentración	Halo en mm	Antibiótico	Concentración	Halo en mm
AC. NAL	30 ug		CLINDAMICINA	2 ug		OXACILINA	1 ug	
AMIKACINA	30 ug	S	COLISTIN	10 ug		PIP/TAZ	100/10 ug	
AMO/CLA	20/10 ug		CTX/CLA	30/10 ug		RIFAMPICINA	5 ug	
AMP/SULB	10/10 ug	R	ERITROMICINA	15 ug		SULF/TRIME	23.75/1.25 ug	R.
AMPICILINA	10 ug		ERTAPENEM	10 ug		TEICOPLANINA	30 ug	
AZTREONAM	30 ug		ESTREPTOMICINA	300 ug		TETRACICLINA	30 ug	
CAZ/CLA	30/10 ug		FOSFOMICINA	200 ug		TIGECICLINA	15 ug	
CEFACLOR	30 ug		GENTAMICINA	120 ug	R	VANCOMICINA	30 ug	
CEFAZOLINA	30 ug		GENTAMICINA	10 ug				
CEFEPIME	30 ug	R	IMIPENEM	10 ug				
CEFOTAXIMA	30 ug	R	LEVOFLOXACINA	6 ug				
CEFTAZIDIMA	30 ug	R	LINEZOLID	30 ug				
CEFTRIAXONA	30 ug	R	MEROPENEM	10 ug	S			
CEFUROXIMA	30 ug		NITROFURANTOINA	300 ug	R			
CIPROFLOXACIN	5 ug	R	NORFLOXACINA	10 ug	R			

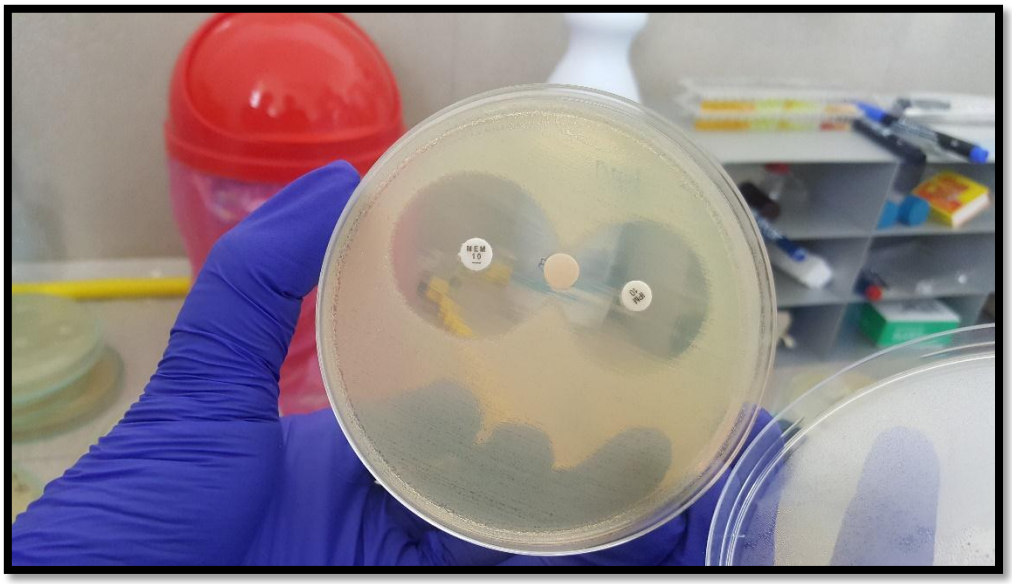
NOTA: Favor adjuntar hoja de equipo automatizado.
Favor llenar todos los datos solicitados.
Contáctos en caso de inquietudes: **Quito:** Mtr. José Eduardo Villacis / jvillacis@inspi.gob.ec / 02 250 9625
Guayaquil: Bq. Evelin Cruz Vargas Arroyo / evargas@inspi.gob.ec / 04 228 2281 ext. 217
Cuenca: Espc. Nadia Patricia Villavicencio Apolo / nvillavicencio@inspi.gob.ec / 07 410 9301
Horario de recepción de cepa: 08h00 a 16h00.

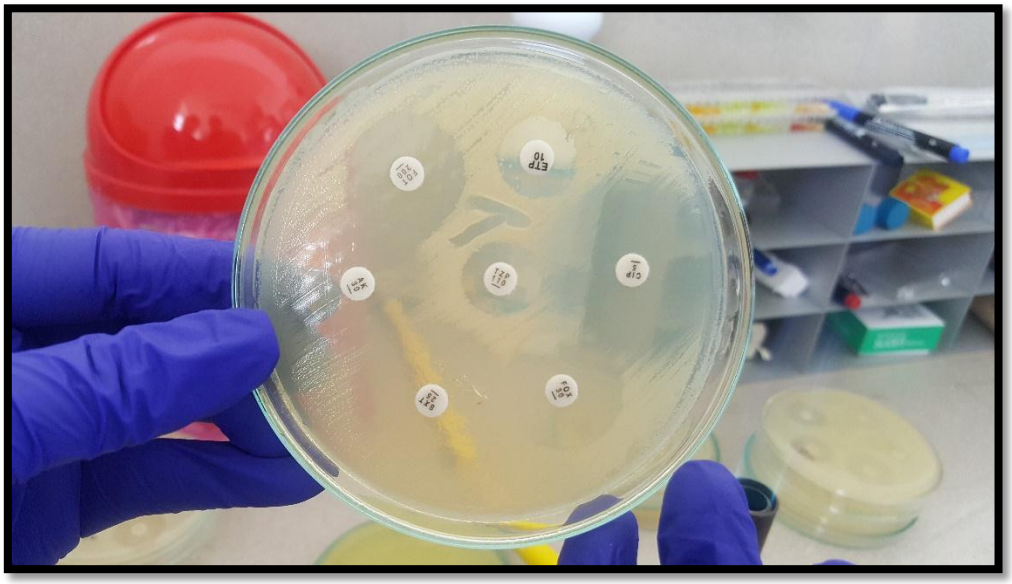
Entregado por:	**Recibido por:**	**Revisado por:**
Responsable Externo de la Entrega de Cepa	Analista	Analista
Firma	*Firma*	*Firma*
Fecha: 04-01-2018	Fecha: Hora:	Fecha:

COD. INSPI:

Página 1/1

Confirmación fenotípica de carbapenemasas





UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 12

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Registro de base de datos

	PROVENIENCIA							SEXO				PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD										
CÓDIG	CONSULTA EXTERNA	EME	UCI	GINE	NEO	CIRUGIA	OTROS	MASCULIN	EMENINO	EDAD	BACTERIA AISLADA	AN	AM	SAM	CF	FEF	CTX	CAZ	CRO	CXM	CIP	ETP
1221090	X								X	38												
1221076	X							X		61												
1221547							X		X	51												
1221831		X							X	52												
1221837		X							X	24												
1222817		X							X	70												
1226086	X								X	70	ESCHERICHIA COLI	S		R		S		S	S		R	
1226817		X							X	37												
1226843		X							X	27												
1226854		X							X	31												
1226076	X								X	22	STAPHYLOCOCUS EPIDERMIDIS											
1226872				X					X	19	ESCHERICHIA COLI	<=2 /S		>=32/ R		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		1/S	
1226863				X					X	27	STAPHYLOCOCUS AUREUS											
1226846		X							X	42	ESCHERICHIA COLI	16/S		>=32/R		4/R		2/R	>=64/R		>=4/R	
1226864				X					X	37	STAPHYLOCOCUS EPIDERMIDIS											
1227856	X							X		20												
1227026	x							x		64	KLEBSIELLA NEUMONIAE	S		R	R	R	R	R	R		R	
1227846		X							X	98	ESCHERICHIA COLI	16/S		>=32/ R		>=64/R		2/R	>=64/R		>=4/R	
1227835		X							X	58												
1227543							X		X	9												
1227557							X		X	5												
1227099	X								X	40	ESCHERICHIA COLI	S		S				S	S		R	
1227096	X								X	68	ESCHERICHIA COLI	<=2 /S		16/I		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		<=0.25/S	
1227085	X								X	26												
1227038	X								X	24												
1227021	X								X	65												
1227561			X					X		81												
1227853		X							X	20												
1227869		X						X		80												
1228044	X								X	21	ESCHERICHIA COLI	<=2 /S		>=32/ R		2/R		16/R	>=64/R		>=4/R	
1228061	X								X	78	ESCHERICHIA COLI	<=2 /S		<=2/S		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		0.5/S	
1229809		X						X		10 M												
1229826		X							X	41												
101864		X							X	19												
101871		X							X	54	ESCHERICHIA COLI	<=2/S		>=32/ R		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		>=4/R	
101876		X							X	51												
102807		X							X	59	ESCHERICHIA COLI	<=2 /S		16/I		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		<=0.25/S	
102029	X							X		40	KLEBSIELLA OXYTOCA	2/S		16/I		<=1/ S		<=1/S	<=1/S		<=0.25/S	
102553							X		X	9												
102826		X							X	8	ESCHERICHIA COLI	2/S		32/R		1/S		1/S	1/S		0.25/S	
102879		X							X	34	STAPHYLOCOCUS EPIDERMIDIS											

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 13

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Formato de registro general de laboratorio

FORMATO DE REGISTRO DE LABORATORIO

FECHA DD/MM/AA	CODIGO	PROVENIENCIA							SEXO		EDAD	BACTERIA AISLADA	PERFIL DE SUSEPTIBILIDAD																		OTRO	OBSERVACIONES
		Consulta externa	Hospitalización						Masculino	Femenino																						
			EME	UCI	GIN	NEO	CRG	OTROS					AN	AM	SAM	CF	FEP	CTX	CAZ	CRO	CXM	CIP	ETP	ESB	FOS	GM	MEM	FT	NOR	SXT		

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 14

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Formato de confirmación de producción fenotípica de BLEE.

Fecha: __/__/___

FORMATO DE CONFIRMACIÓN DE PRODUCCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS										
BLEE										
Código de muestra	Organismo identificado	Sinergia de discos		Discos combinados						
		CRO FEP AMC CAZ ATM	. Control de calidad	CAZ	CAZ/CLA	Interpretación de Resultado	CTX	CTX/CLA	Interpretación de resultado	Control de calidad

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 15

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Formato de confirmación de producción fenotípica de AmpC.

Fecha: __ /__ /__

FORMATO DE CONFIRMACIÓN DE PRODUCCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS											
AMP C											
Código de Muestra	Germen aislado	Sinergia de discos			Disco combinados						
		FOX CLO CAZ	INTERPRETACIÓN RESULTADO	CONTROL DE CALIDAD	FEP	FEP /CLO	CTX	CTX/ CLO	INTERPRETACIÓN RESULTADO	CONTROL DE CALIDAD	

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Anexo 16

Proyecto. Enterobacterias productoras de betalactamasas causantes de infecciones de vías urinarias en usuarios del hospital "Isidro Ayora" Loja.

Formato de confirmación de producción fenotípica de Carbapenemasas.

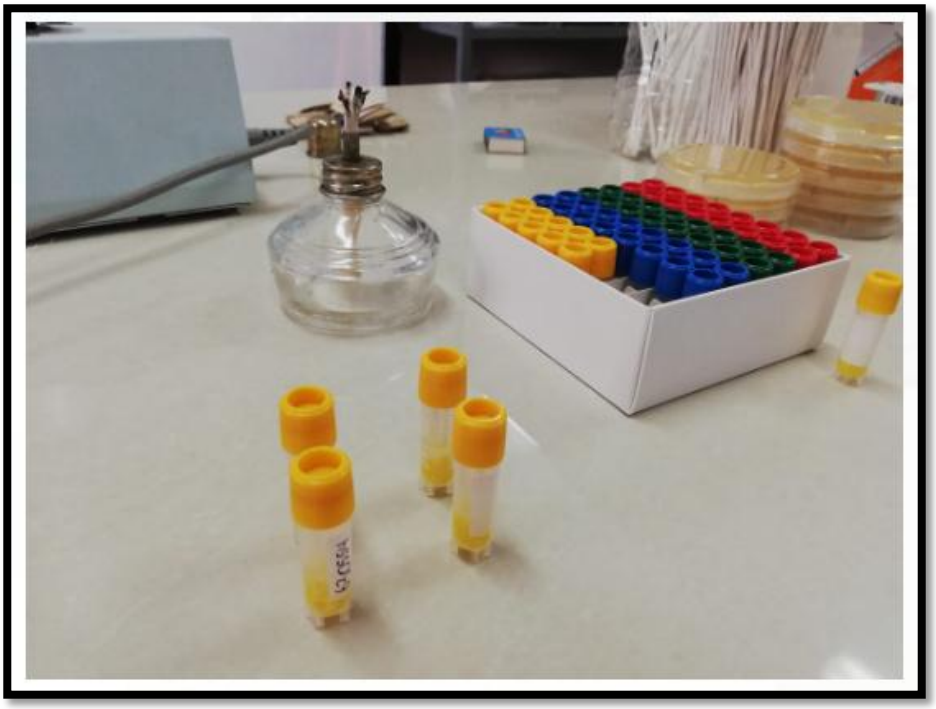
FORMATO DE CONFIRMACIÓN DE PRODUCCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS

CARBAPENEMASAS Fecha: __/__/___

Código de Muestra	Microorga-nismo identificado	Sinergia de discos		Discos combinados								Método directo		Inactivación	
		MM APB EDL	Control de calidad	APB	MM/ APB	EDL	MM/ EDL	CLO	MM/ CLO	Interpre-tación de resultado	Control de calidad	Resul-tado	Control de calidad	Resul-tado	Control de calidad

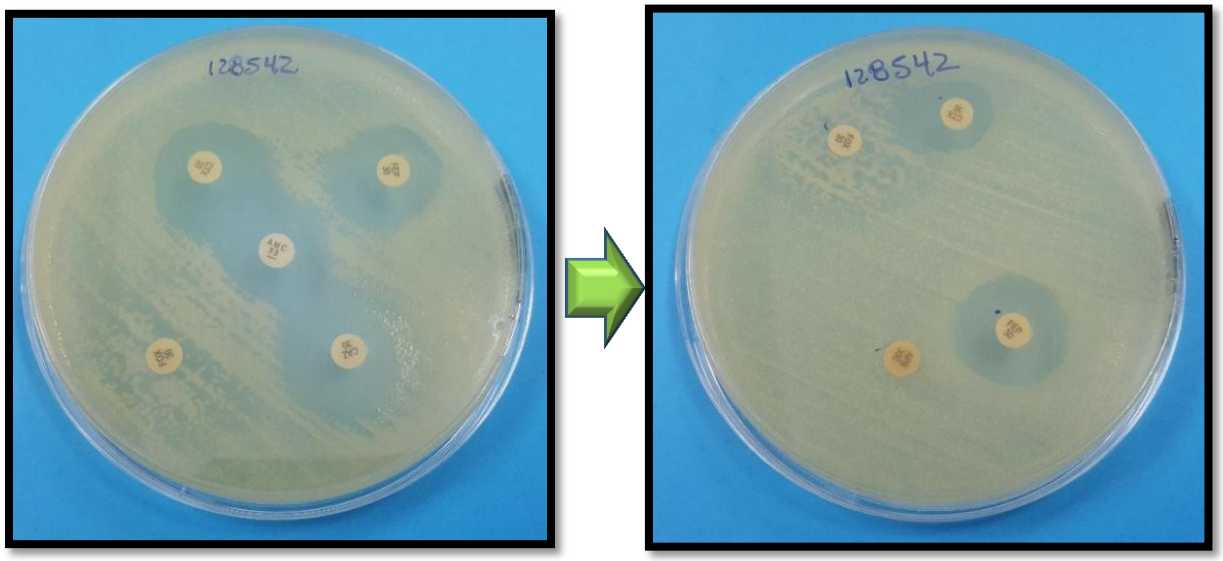
m. Apéndices

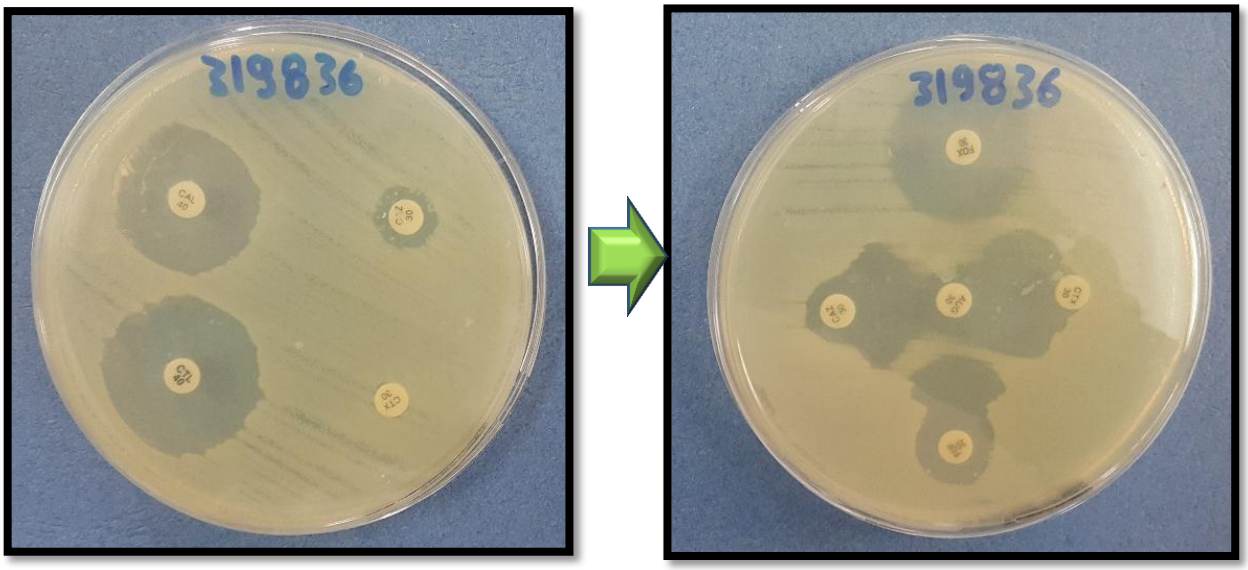
Conservación de cepas control



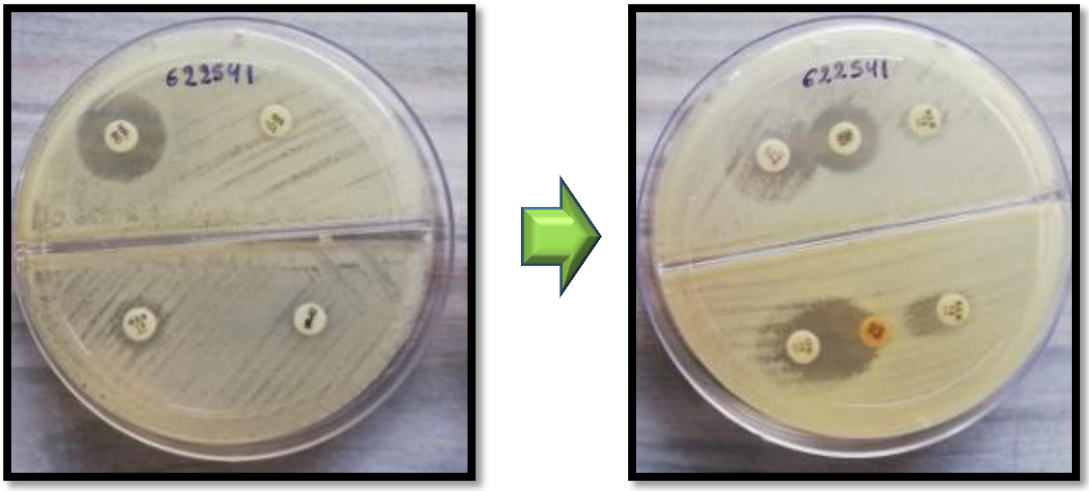
Preparación de escala Mcfarland

Cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido





Cepa productora de carbapenemasas



Certificado de traducción del resumen

FINE-TUNED ENGLISH LANGUAGE INSTITUTE
Líderes en la Enseñanza del Inglés

Lic. Gloria Marlene Tamayo Jaramillo.
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.

C E R T I F I C A:

Que el resumen de la tesis titulada: ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA LOJA, correspondiente a la Sta. Evelyn Dayanara Atancuri Barreiro con número de cédula 0104672027 es fiel traducción del Idioma Español al Idioma Inglés.

Lo certifica en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 29 de Octubre de 2018

Lic. Gloria Marlene Tamayo Jaramillo.
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.

Fine-Tuned English Cía. Ltda. | Teléfono 2578899 | Email venalfine@finetunedenglish.edu.ec | www.finetunedenglish.edu.ec

Loja: Macará entre Miguel Riofrío y Rocafuerte
Catamayo: Av. 24 de Mayo 08 - 21 y Juan Montalvo Telfs. 2678442
Zamora: García Moreno y Pasaje 12 de Febrero Telfs. 2608169
Yantzaza: Jorge Mosquera y Luis Bastidas Edificio "Coop. Sindicato de Choferes"