UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

"Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital 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:

Sthefany Cecibel Torres Aguilar

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Esp.

LOJA – ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Esp.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado en el marco del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja vigente, todo el proceso de desarrollo del trabajo investigativo titulado: **"SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTE DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA, LOJA"** de autoría de la Srta. **STHEFANY CECIBEL TORRES AGUILAR**, previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Loja, 13 de Noviembre del 2018

Atentamente,

Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Esp.
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **STHEFANY CECIBEL TORRES AGUILAR** con CI. 1104283773 declaro ser autora del presente trabajo de investigación titulada **"SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTE DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA, LOJA".**

Acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación del presente trabajo en el Repositorio Institucional de la Biblioteca Virtual.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Autora: Sthefany Cecibel Torres Aguilar

Firma:_ ___ _____

Cédula*:* 1104283773

Fecha: Loja, 13 de Noviembre del 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Sthefany Cecibel Torres Aguilar, declaro ser autora del trabajo de investigación **"SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTE DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL 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 su visibilidad del contenido de la siguiente manera en el repositorio Digital Institucional.

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

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 13 días del mes de Noviembre del dos mil dieciocho, firma la autora.

Firma: _____

Autora: Sthefany Torres Aguilar

Cédula: 1104283773

Correo electrónico: torres_any47@hotmail.es

Teléfono: 072578575 **Celular:** 099013961

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora de Tesis: Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Esp.

Tribunal de grado:

Presidenta de tribunal: Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Alicia Silvana Villavicencio Obando, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Marlon Rolando Bravo Bonilla, Mg. Sc.

DEDICATORIA

Con mucho cariño dedico el siguiente trabajo:

Primeramente a Dios: por todas las bendiciones recibidas a lo largo de mi vida, por ser el Padre donde siempre he encontrado paz y apoyo para seguir adelante y poder culminar esta meta tan importante.

A mis padres: quienes son mi pilar, los que siempre han estado en todas las etapas de mi vida, brindándome todo su apoyo y amor incondicional para completar cada una de las metas propuestas; por levantarme en los momentos más duros y enseñarme a no rendirme nunca

A mis hermanas: por sus consejos y su amor en cada momento alentándome siempre a ser mejor persona, y a no rendirme jamás, por ser un apoyo fundamental en mi vida.

A mis amigos: por permanecer a mi lado en todo momento, ayudándome, aconsejándome, y creciendo como personas e instruyéndonos en este transcurso de educación superior.

AGRADECIMIENTO

Quisiera expresar mi agradecimiento primeramente a Dios por llenarme de bendiciones para poder lograr esta meta tan anhelada, a mi familia que es a base y el pilar de lo que somos, ya que sin ellos, sin su apoyo y su amor incondicional nada de esto hubiera sido posible; a mis Amigos por cada consejo y aliento para seguir adelante a lo largo de esta etapa.

A la Universidad Nacional de Loja, Área de la Salud Humana, Carrera de LABORATORIO CLÍNICO por darme la oportunidad de estudiar y formarme para ser una buena profesional.

Así mismo a cada una de las docentes que han estado presentes durante mi formación, a la licenciada Carmen Ullauri por permitirme formar parte del Macroproyecto de investigación y por todos los conocimientos aportados para ser excelentes profesionales, así como su apoyo para realizar este trabajo

De igual manera a mi directora de tesis, Dra. Sandra Freire por dirigir este trabajo.

ÍNDICE

CARATULA ……i
CERTIFICACIÓN i
AUTORÍA..... iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN iv
DEDICATORIA v
AGRADECIMIENTO vi
a. Título 1
b. Resumen..... 2
c. Introducción 4
d. Revisión de la literatura 6
1. Infección de vías urinarias 6
2. Etiología: bacterias Gram Negativas y Gram Positivas 7
2.1. Bacterias Gram Negativas..... 7
2.1.1. Enterobacterias..... 8
2.1.1.1. Escherichia coli 8
2.1.1.1.1. Clasificación de Escherichia coli 8
3. Susceptibilidad antimicrobiana 9
3.1. Antibióticos importantes para *Escherichia coli* 10
3.1.1. *Nitrofurantoína* 10
3.1.2. *Fosfomicina*..... 10
3.1.3. *Trimetropim sulfametoxazol* 11
3.1.4. *Cefazolin* 11
3.1.5. *Ciprofloxacina* 12
3.1.6. *Amikacina* 13
3.1.7. *Cefepime* 13
3.1.8. *Ceftazidime* 14
3.1.9. *Ceftriaxone*..... 15
3.1.10. *Gentamicina* 15
3.1.11. *Meropenem.* 16
3.1.12. *Norfloxacina* 17
4. Resistencia bacteriana 17
4.1. Tipos de resistencia..... 17
4.1.1. *Resistencia natural*..... 17

4.1.2. *Resistencia adquirida* 17
4.2. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* 18
5. Pruebas diagnósticas para susceptibilidad antimicrobiana 19
5.1. Métodos de dilución 19
5.1.1. *Dilución en agar* 19
5.1.2. *Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)* 19
5.2. Método de difusión en Agar (Kirby-Bauer) 20
5.3. Métodos automatizados 21
5.3.1. Equipo automatizado 22
6. Criterios de interpretación de las pruebas de susceptibilidad 24
e. Materiales y métodos 25
Tipo de estudio 25
Área de estudio 25
Universo 25
Muestra 25
f. Resultados 29
g. Discusión 34
h. Conclusiones 38
i. Recomendaciones 39
j. Bibliografía 40
k. Anexos 43
Anexo 1. Indicaciones para la recolección de la muestra de orina en paciente ambulatorios y hospitalizados 44
Anexo 2. Autorización para el desarrollo del proyecto 47
Anexo 3. Certificación para el desarrollo del proyecto de investigación "susceptibilidad antimicrobiana de escherichia coli causante de infeccion de vias urianarias en usuarios del hospital isidro ayora, loja" 48
Anexo 4. Formato de recolección de datos 49
Anexo 5. Protocolo para el transporte y almacenamiento de la muestra de orina. 52
Anexo 6. Protocolo de siembra de muestras por técnica de asa calibrada y conteo de colonias 55
Anexo 7. Protocolo de identificación bacteriana por método automatizado. 60
Anexo 8. Protocolo para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias identificadas por el método de concentración inhibitoria mínima 64

Anexo 9. Protocolo de identificación y confirmación fenotipica de blee por medio de sinergia de discos 66

Anexo 10. Protocolo para la identificación y confirmación fnotípica de ampc..... 72

Anexo 11. Formato de recolección de datos para la identificación y susceptibilidad antimicrobiana..... 76

Anexo 12. Evidencia fotográfica 77

a. Título

“Susceptibilidad antimicrobiana de *Eschericha coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora, Loja.”

b. Resumen

La infección de vías urinarias (IVU) es una de las infecciones bacterianas más frecuentes en cualquier edad, con predominio en mujeres con alta probabilidad de recurrencia por reinfecciones con gérmenes distintos al de la primera manifestación; la IVU implica el crecimiento de gérmenes en el tracto urinario, donde *Escherichia coli* es la especie más frecuentemente aislada en las infecciones urinarias a cualquier edad, con un 95% de casos. (Pigrau Serrallach, 2013). El presente estudio descriptivo y de corte transversal, denominado "Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora, Loja"; tuvo como objetivos conocer la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* y clasificar las cepas resistentes de la misma según edad, sexo y área de servicio de salud; el universo fueron todas las muestras de orina con pedidos de urocultivo, el cual fue de 591, de las cuales se aislaron 173 cepas de *Escherichia coli* en las que se identificó y determinó la susceptibilidad antimicrobiana por el método automatizado; se realizó el tamizaje para producción de betalactamasas de acuerdo a los criterios de la tabla 3A y 3C del documento M100-S28 del CLSI y se confirmó fenotípicamente por criterios de la misma tabla, la resistencia se presentó en trimetropin sulfametoxazol con un 53.03 % y a ampicilina/ sulbactam con un 42.46 % y de las muestras de *Escherichia coli*, 30 presentaron mecanismo de resistencia BLEE (Betalactamasas de espectro extendido) y un caso tipo AmpC; esto se encontró con mayor frecuencia en mujeres que en hombres en edad adulta (20 a 59 años) y adultos mayores (más de 60 años); en el área de emergencia con mayor frecuencia.

Palabras clave: *Escherichia coli*, (IVU) Infección de vías urinarias, susceptibilidad antimicrobiana, BLEE.

Abstract

Urinary tract infection (UTI) is one of the most frequent bacterial infections in any age, with predominance in women with high probability of recurrence due to reinfections with germs other than the first manifestation; UTI involves the growth of germs in the urinary tract, where *Escherichia coli* is the most frequently isolated species in urinary tract infections at any age, with 95% of cases. (Pigrau Serrallach, 2013). This descriptive and cross-sectional study, called "Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora, Loja"; aimed to know the antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* and classify the resistant strains of the same according to age, sex and area of health service; the universe was all urine samples with orders of urine culture, which was 591, of which 173 strains of *Escherichia coli* were isolated in which the antimicrobial susceptibility was identified and determined by the automated method; screening for beta-lactamase production was performed according to the criteria of table 3A and 3C of document M100-S28 of the CLSI and phenotypically confirmed by criteria of the same table, resistance was presented in trimetropin sulfamethoxazole with 53.03% and ampicillin / sulbactam with 42.46% and of the *Escherichia coli* samples, 30 showed ESBL resistance mechanism (extended spectrum beta-lactamasmas) and one AmpC type case; this was found more frequently in women than in men in adulthood (20 to 59 years) and older adults (over 60 years); in the emergency area more frequently.

Key words: Escherichia coli, (UTI) Urinary tract infection, antimicrobial susceptibility, ESBL.

c. Introducción

La infección de vías urinarias (IVU) es la invasión, colonización y multiplicación de microorganismos en el aparato urinario; son 14 veces más frecuentes en la mujer que en el hombre donde cerca del 20 % de las mujeres tendrán alguna infección urinaria en el curso de su vida; estas infecciones ocurren en 1–3 % de adolescentes escolares y se incrementan con el inicio de la actividad sexual. (Jawetz, 2011).

Las infecciones de vías urinarias son un problema de salud pública debido a la resistencia o multirresistencia adquirida de varias bacterias pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae* causantes de IVU. (Guevara P, 2011).

Los microorganismos responsables de la infección urinaria sintomática y asintomática más frecuentes son: *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella, Proteus vulgaris y Enterobacter;* algunas bacterias Gram Positivas han sido asociadas con la patología del tracto urinario, aunque de forma menos frecuente como el *Staphylococcus* coagulasa negativo y *Estreptococo del grupo B* (Rodriguez Costa, 2010)

Es importante conocer el perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* puesto que las resistencias son la principal causa de falla terapéutica; a nivel regional, el INSPI (Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública) en Ecuador, realizó un análisis acumulado de la susceptibilidad antimicrobiana de un aislado por paciente en el año 2014, donde se evidencia la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* menor al 70 % para ampicilina, cefotaxima, cefazolina, cefepime, amoxicilina / clavulánico, ciprofloxacina y trimetoprim-sulfametoxazole; una susceptibilidad entre 70-90 % para ceftriaxona, ceftazidima y gentamicina; y finalmente susceptibilidad mayor al 90 % para imipenem, nitrofurantoina y fosfomicina; siendo los fármacos

con buen perfil de sensibilidad nitrofurantoina y fosfomicina, los cuales pueden ser buena opción terapéutica previo a utilizar antibióticos de amplio espectro. (Escalante, Zurita, & Acosta, 2016).

La presente investigación titulada "Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora, Loja" de tipo descriptivo y de corte transversal, se realizó con la finalidad de determinar la susceptibilidad de *Escherichia coli*, y clasificar según edad, sexo y área de servicio; donde 173 muestras tuvieron como bacteria a *Esherichia coli*; esto permitió clasificar la susceptibilidad de esta bacteria por el método automatizado en el Hospital Isidro Ayora según edad, sexo, área de servicio y así relacionar a que antibióticos tienen mejor sensibilidad y a cuáles presentó mayor resistencia, apareciendo 1 muestra con mecanismo de resistencia tipo AmpC y 30 muestras con resistencia tipo BLEE.

Los resultados sobre la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* en este estudio confirman el problema que existe en cuanto a infección de vías urinarias y la resistencia que se presenta a ciertos antibióticos, como ampicilina /sulbactam o trimetropin sulfametoxazol, por lo que conocer la susceptibilidad antimicrobiana de esta bacteria, es muy importante ya que contribuye a una buena administración antibiótica, evitando así fracasos terapéuticos y resistencias.

d. Revisión de la literatura

1. Infección de vías urinarias

La infección de vías urinarias (IVU) es una de las infecciones bacterianas más frecuentes en Pediatría, ya que el 8-10% de las niñas y el 2-3% de los niños tendrán una IVU sintomática antes de los siete años de edad, siendo más frecuente en varones en los primeros tres meses de vida y produciéndose un incremento progresivo con predominio de niñas a partir del año de vida, con alta probabilidad de recurrencia (>30 %) por reinfecciones con gérmenes distintos al de la primera manifestación, especialmente durante el primer año tras el episodio inicial, en cuanto a la prevalencia de IVU de acuerdo a la raza, diversos estudios muestran una mayor prevalencia en asiáticos, seguida de niños y niñas de raza blanca e hispanos, y por último en afroamericanos. (Pigrau Serrallach, 2013).

Conceptualmente, la IVU implica el crecimiento de gérmenes en el tracto urinario, habitualmente estéril, asociado a sintomatología clínica compatible, debiendo distinguirse de la bacteriuria asintomática (BA), que no presenta síntomas ni signos de reacción inflamatoria de las vías urinarias; una infección se produce normalmente cuando las bacterias que viven dentro del intestino encuentran su camino en el tracto urinario a través de la uretra. (Jawetz, 2011)

Escherichia coli es la especie más frecuentemente aislada en las infecciones urinarias a cualquier edad, incluidos los ancianos; sin embargo, hay aumento de la frecuencia de IVU producida por gérmenes distintos, como *Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Citrobacter, Serratia, Providencia, Morganella morganii, Staphylococcus coagulasa negativo, Streptococcus del grupo B, Enterococcus, Pseudomonas aeruginosa o Candida;* donde según la procedencia

del paciente, el espectro de especies aisladas varía (Criollo, Gutierrez, & Duran, 2015).

2. Etiología: bacterias Gram Negativas y Gram Positivas

Las bacterias se pueden clasificar en dos grandes grupos según la estructura de la pared celular: las bacterias Gram Positivas y las bacterias Gram Negativas; las diferencias en la pared celular de ambos tipos generan una respuesta diferente al someterse a la conocida tinción de Gram; as bacterias Gram negativas aparecen teñidas de rosa – fucsia y las bacterias Gram positivas de azul – morado. (Criollo, Gutierrez, & Duran, 2015).

2.1. Bacterias Gram Negativas

Son bacterias cuya envoltura celular está compuesta por una membrana citoplasmática, una pared celular delgada de peptidoglicano, que rodea a la anterior, y una membrana externa que recubre la pared celular de estas bacterias; la parte exterior de la membrana comprende un complejo de lipopolisacáridos cuya parte lípida actúa como una endotoxina y es responsable de la capacidad patógena del microorganismo, por lo que muchas especies de bacterias Gram Negativas causan enfermedades. (Lorenzo. P, 2015).

Dentro del grupo de las bacterias Gram Negativas están las enterobacterias que son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram Negativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales; esta familia comprende muchos géneros (*Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus* y otros más); algunos de estos microorganismos entéricos, por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la microflora normal y en forma incidental producen enfermedad. (Pigrau Serrallach, 2013).

Las *Enterobacteriaceae* son anaerobios o aerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas (Criollo, Gutierrez, & Duran, 2015).

2.1.1. Enterobacterias

Las enterobacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram Negativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales; esta familia comprende muchos géneros (*Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus* y otros más); algunos de estos microorganismos entéricos, por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la microflora normal y en forma incidental producen enfermedad, en tanto que otros, las salmonelas y las shigelas, por lo general son patógenos para el ser humano; las *Enterobacteriaceae* son anaerobios o aerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas. (Jawetz, 2011).

2.1.1.1. Escherichia coli

Escherichia coli son bacilos Gram Negativos aerobios facultativos y oxidasa negativos, asociados a enfermedades como gastroenteritis e infecciones extra intestinales como las IVU, donde la infección del sistema urinario puede ocasionar bacteriemia. (Rául, 2007).

2.1.1.1.1. Clasificación de Escherichia coli

Según la Organización mundial de la salud (OMS) se puede clasificar a *Escherichia coli* según el factor genético que define su virulencia y el cuadro clínico asociado de la siguiente manera:

- Enteropatógena (EPEC): Afecta la mucosa intestinal, produce diarrea en los lactantes, la enfermedad puede ceder en forma espontánea o puede ser crónica ocasionando la muerte si no es controlada a tiempo.
- Enteroinvasivo (EIEC**):** produce evacuaciones sanguinolentas, libera el calcio en grandes cantidades impidiendo la solidificación ósea, produce enfermedad al invadir las células epiteliales de la mucosa intestinal.
- Enterohemorrágico (EHEC): Produce colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Es uno de los patógenos más frecuentes entre los casos de diarrea con sangre.
- Enteroagregativo (EAEC): produce diarrea acuosa, mucoide, fiebre de baja intensidad y raramente vomito.
- Enterotoxigénica (ETEC): causa diarrea de leve a moderada-severa en lactantes, produce un síndrome similar al cólera en adultos, provoca diarrea del viajero y origina el daño mediante su adhesión y producción de enterotoxinas. (OMS, 2016).

3. Susceptibilidad antimicrobiana

Es un fenómeno que se produce cuando un antibiótico afecta a un microorganismo produciendo la muerte o evitando su proliferación (sensible); o cuando el microorganismo deja de verse afectado por el antibiótico al que antes era sensible, lo que lleva a que el medicamente sea ineficiente y conduce a que persistan las infecciones (resistencia). (OMS, 2004).

3.1. Antibióticos importantes para *Escherichia coli*

3.1.1. *Nitrofurantoína*

Es un antibiótico que Inhibe la acetil –coenzima A bacteriana, se utiliza específicamente para el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes Gram Negativos y por algunos Gram Positivos. (Pigrau Serrallach, 2013).

Mecanismo de acción: La nitrofurantoína inhibe la acetil- coenzima A bacteriana, interfiriendo con el metabolismo de los carbohidratos e impidiendo la formación de la pared celular; la actividad antibacteriana de la nitrofurantoína depende de la acidez de la orina; en general, es bacteriostática, pero a altas concentraciones puede ser bactericida frente a determinados microorganismos. (Galiano, 2012).

3.1.2. *Fosfomicina*

Es un antibiótico bactericida que inhiben la síntesis de la pared bacteriana, es activa frente a microorganismos Gram Positivos como los estafilococos y también frente a gramnegativos, incluidas cepas productoras de penicilinasas y los patógenos más comunes en las vías urinarias como *Escherichia coli.* (Lorenzo. P, 2015).

Mecanismo de acción: La fosfomicina inhibe uno de los primeros pasos de la síntesis de los peptidoglicanos, al inactivar de forma irreversible la enzima bacteriana enolpiruvato-transferasa ocupando el lugar del fosfoenolpiruvato; de esta manera no se realiza la síntesis de la pared celular bacteriana; la inhibición de la síntesis de peptidoglicanos origina una acumulación de los nucleótidos precursores con la correspondiente inactivación de la bacteria. (Galiano, 2012).

3.1.3. *Trimetropim sulfametoxazol*

Bloquea la síntesis del ácido fólico bacteriano, tiene acción bactericida. Se usa para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario así como también en infecciones como la neumonía. (Brunton & Lazo, 2007).

Mecanismo de acción: El trimetropim sulfametoxazol es generalmente bactericida actuando al inhibir enzimas secuenciales que intervienen en la síntesis del ácido fólico bacteriano, donde el sulfametoxazol inhibe la formación de ácido fólico a partir de ácido p-aminobutírico (PABA) y por su parte el trimetropin se une a la enzima dihidrofolato reductasa impidiendo la formación de ácido tetrahidrofólico sin el cual la bacteria no puede sintetizar timidina, lo que conduce a una interferencia en la síntesis de los ácidos nucleicos y proteínas; la combinación de ambos es sinérgica frente a un gran número de bacterias. (Suárez & Gudiol, 2008).

3.1.4. *Cefazolin*

Se usa para el tratamiento de infecciones urinarias de la piel, pélvicas, respiratorias bajas, septicemia, osteoarticulares, tracto biliar y endocarditis; y para la prevención de infecciones graves producidas por bacterias, demostrado por antibiograma previamente; este antibiótico pertenece a la clase de fármacos llamados antibióticos con cefalosporina de primera generación semisintética y de amplio espectro bactericida. (Pigrau Serrallach, 2013).

Mecanismo de acción: igual que otros antibióticos beta-lactámicos, la cefazolina es bactericida, inhibe el tercer y último paso de la síntesis de la pared bacteriana, uniéndose específicamente a unas proteínas denominadas PBPs (penicillin-binding proteins) proteínas presentes en todas las células bacterianas, aunque la afinidad

hacia las mismas varía de una especie bacteriana a otra: de esta forma, la capacidad de la cefazolina hacia un determinado microorganismo depende de su capacidad para llegar y fijarse a las PBPs, una vez fijado el antibiótico a estas proteínas, la síntesis de la pared bacteriana queda interrumpida y la bacteria experimenta la una autolisis; la lisis de la bacteria se lleva a cabo gracias a determinadas enzimas (las autolisinas) y, algunos autores creen que algunos antibióticos interfieren con el inhibidor de las autolisinas que mantiene la integridad de la célula. Entre las bacterias Gram Negativas sensibles a la cefazolina se incluyen *E. coli*, *Klebsiellas* y *Proteus mirabilis*. (Galiano, 2012).

3.1.5. *Ciprofloxacina*

La ciprofloxacina es un agente antimicrobiano de la clase de las fluoroquinolonas; es activo frente a un amplio espectro de gérmenes Gram Negativos aerobios, incluyendo patógenos entéricos. (Brunton & Lazo, 2007).

Mecanismo de acción: Los efectos antibacterianos de la ciprofloxacina se deben a la inhibición de la topoisomerasa IV y la DNA-girasa bacterianas, estas topoisomerasas alteran el DNA introduciendo pliegues super helicoidales en el DNA de doble cadena, facilitando el desenrollado de las cadenas; la DNA-girasa tiene dos subunidades codificadas por el gen gyrA, y actúan rompiendo las cadenas del cromosoma bacteriano y luego pegándolas una vez que se ha formado la superhélice, las quinolonas actúan inhibiendo estas subunidades impidiendo la replicación y la transcripción del DNA bacteriano. (Galiano, 2012).

Por lo expuesto se nota que los agentes antimicrobianos actúan por una serie de mecanismos, muy diferentes entre ellos y cuyos blancos se encuentran en diferentes regiones de la célula atacada; los antibióticos actúan inhibiendo diversos procesos

metabólicos que son esenciales para la supervivencia de los microorganismos; la especificidad de acción depende de que el fármaco bloquee una enzima o sustrato no presente en las células eucariotas humanas o suficientemente distintas. (Suárez & Gudiol, 2008).

3.1.6. *Amikacina*

Es un aminoglucósido semisintético derivado de la kanamicina, posee acción bactericida; tiene un espectro antimicrobiano frente a bacterias Gram Negativas (incluidas muchas resistentes a gentamicina y/o tobramicina), con alguna cobertura de bacterias Gram Positivas (estafilococos). (Brunton & Lazo, 2007).

Mecanismo de acción: El mecanismo de acción de amikacina se debe a su capacidad de penetrar en la bacteria y unirse a las subunidades 30S y 50S de los ribosomas inhibiendo la síntesis proteica; la amikacina se manifiesta activa in vitro frente a muchas cepas de los siguientes microorganismos:

Gram Negativos: *Pseudomonas sp., Escherichia coli, especies de Proteus sp. (indolpositivos e indol-negativos), Providencia sp., Klebsiella-Enterobacter-Serratia sp., Acinetobacter sp. (Mima-Herellea) y Citrobacter freundii.* (Norman, 2013)**.**

Gram Positivos: *Staphylococcus sp*. productores y no productores de penicilasa, incluyendo cepas resistentes a la meticilina. (Norman, 2013)**.**

3.1.7. *Cefepime*

Es una cefalosporina de cuarta generación con mayor espectro de acción que las cefalosporinas de tercera generación y más activa contra bacterias aeróbicas Gram Positivos. (Brunton & Lazo, 2007).

Mecanismo de acción: Al igual que otras cefalosporinas ejerce su acción por inhibición de la síntesis de peptidoglicanos en la pared celular bacteriana por unión a las proteínas fijadoras de penicilinas, resultando en la inhibición del desarrollo bacteriano con lisis celular y muerte; es activa contra microorganismos Gram Positivos y Gram Negativos aeróbicos y contra Enterobacterias incluyendo aquellas que producen B-lactamasas cromosómicamente mediadas. (Norman, 2013)**.**

3.1.8. *Ceftazidime*

La ceftazidima es una cefalosporina de tercera generación, las cefalosporinas de tercera generación son más activas y tienen un espectro más amplio contra las bacterias Gram Negativas aerobias que una de primera o segunda generación; la ceftazidima como otras cefalosporinas de tercera generación, es menos activa contra organismos Gram positivos que las cefalosporinas de primera generación. (Ruiz, 2011).

Mecanismo de acción*:* La ceftazidima, un antibiótico bactericida que inhibe la tercera y última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana por preferencialmente la unión a proteínas de unión a penicilina (PBPs) específicos que se encuentran dentro de la pared celular bacteriana; las proteínas de unión a penicilina son responsables de varios pasos en la síntesis de la pared celular y se encuentran en cantidades de varios cientos a varios miles de moléculas por célula bacteriana; las proteínas de unión a penicilina pueden variar entre diferentes especies bacterianas; por lo tanto, la actividad intrínseca de ceftazidima, así como las otras cefalosporinas y penicilinas contra un organismo particular depende de su capacidad para acceder y enlazar con el PBP necesario, en particular, ceftazidima se une preferentemente a la PBP-3 de bacilos Gram Negativos, debido a que la PBP-3 es responsable de la

formación del septo durante la división celular, la inhibición por la ceftazidima de estas proteínas hace que la elongación de las bacterias, la inhibición de la división celular bacteriana, y la rotura de la pared celular resulten en la lisis celular y la muerte. (Suárez & Gudiol, 2008).

3.1.9. *Ceftriaxone*

La ceftriaxona es una cefalosporina de tercera generación para uso que muestra una actividad significativa frente a gérmenes Gram Negativos; el espectro de actividad de la ceftriaxona es similar al de la cefotaxima y ceftizoxima. (Ruiz, 2011).

Mecanismo de acción: La ceftriaxona, como todos los antibióticos B-lactámicos es bactericida, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana al unirse específicamente a las PBPs que se localizan en dicha pared, estas proteínas son diferentes para cada especie bacteriana, por lo que la actividad de cada uno de los antibióticos B-lactámicos depende de la capacidad de estos para acceder y unirse a dichas proteínas. (Galiano, 2012).

3.1.10. *Gentamicina*

Es un antibiótico aminoglucósido, producido por un actinomiceto, el *Micromonospora purpurea* que se utiliza en el tratamiento de infecciones producidas por gérmenes sensibles, sobre todo Gram Negativos, incluyendo la *Pseudomona aeruginosa.* . (Ruiz, 2011).

Mecanismo de acción: La gentamicina se une a la subunidad S30 del ribosoma bacteriano, impidiendo la transcripción del DNA bacteriano y, por tanto, la síntesis de proteínas en los microorganismos susceptibles. Los siguientes microorganismos suelen ser susceptibles a la gentamicina: *Pseudomonas aeruginosa*, especies de *Proteus, Escherichia coli*, especies de *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (indol-

positivos y negativos-indol), especies de *Citrobacter*, y *Staphylococcus* (coagulasa positivos y negativos a la coagulasa). (Galiano, 2012).

3.1.11. *Meropenem*

Es un antibiótico semisintético de la familia de los carbapenems; el espectro antibacteriano del meropenem es muy parecido al del imipenem aunque el primero es más activo frente a las *Enterobacteriaciae, Haemophilus influenzae, gonococcus,* y *Pseudomonas aeruginosa.* . (Ruiz, 2011).

Mecanismo de acción: El meropenem inhibe la formación de la pared celular, facilitando la lisis de bacteria, siendo su efecto bactericida, esta interferencia del meropenem con la síntesis de la pared celular tiene lugar en la fase tercera y ultima de la misma, al unirse de forma preferencial a determinadas proteínas bacterianas, las PBPs; el meropenem es una sustancia anfótera que atraviesa fácilmente la membrana externa de la célula y una vez dentro, se une a varias de las PBPs teniendo una elevada afinidad hacia las PBP-2 y PBP-3 a diferencia del imipenem que tiene una elevada afinidad sólo hacia las PBP-2. Además, el meropenem tiene una alta afinidad hacia las PBP-1a y PBP-1b dos de las proteínas de soporte de la pared bacteriana: al unirse a estas proteínas, el meropenem produce una rápida lisis de la bacteria, al ponerse en marcha enzimas proteolíticas bacterianas, las autolisinas, donde el meropenem es muy resistente a la acción de las B-lactamasas. (Suárez & Gudiol, 2008)

3.1.12. *Norfloxacina*

Es un agente antibacteriano de la clase de las fluoroquinolonas cuyo mecanismo de acción es el siguiente:

Mecanismo de acción: La norfloxacina es bactericida por sus efectos sobre la ADN girasa, una enzima responsable de contrarrestar el superenrollamiento excesivo del ADN durante la replicación o transcripción esto permite que los organismos de crecimiento rápido y lento sean inhibidos por las fluoroquinolonas. (Galiano, 2012).

4. Resistencia bacteriana

La resistencia antimicrobiana se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antipalúdicos o antihelmínticos, por ejemplo); como resultado, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el organismo, lo que incrementa el riesgo de propagación a otras personas. (Pedrique, 2002).

4.1. Tipos de resistencia

4.1.1. *Resistencia natural*

Es el resultado del estado normal, genético, estructural o fisiológico normal de un microorganismos que se desarrolla en forma natural en ausencia de mecanismos de presión de selección antimicrobiana es decir no hay exposición previa a los antibióticos. (Bailey & Scott, 2007).

4.1.2. *Resistencia adquirida*

Es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico pero que ha sido modificada genéticamente ya sea por

mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones); son evolutivas y su frecuencia depende de la utilización de los antibióticos. (Perez & Robles , 2013).

4.2. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli*

Los mecanismos de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* hacia ampicilina, trimetropim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloramfenicol y ácido nalidíxico son múltiples, estos mecanismos se adquieren mediante mutaciones puntuales a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre especies relacionadas o diferentes; esta transferencia horizontal permite que los mecanismos se trasladen entre diferentes enteropatógenos y que se diseminen rápidamente a nivel mundial. (Bailey & Scott, 2007).

Para cada familia de antibióticos existe más de un mecanismo de resistencia antibiótica, como en el caso de la quinolonas que presentan mutaciones cromosómicas, proteínas que impiden la unión del antibiótico y las bombas de eflujo específicas; en general, los tipos de mecanismos moleculares de resistencia más comunes se encuentran: inactivación enzimática, alteraciones en el sitio blanco y alteraciones de la permeabilidad; el control molecular de la resistencia antibiótica es parte transcendental de la política de control de la vigilancia antibiótica como lo recomienda la OMS, este mecanismo representa el futuro de la vigilancia de resistencia, debido a que si bien los mecanismos de resistencia surgen ante el uso de un antibiótico específico, generan también resistencia cruzada hacia otros antibióticos de la misma clase o con el mismo mecanismo de acción y e incluso a compuestos de familias diferentes. (Ruiz, 2011).

5. Pruebas diagnósticas para susceptibilidad antimicrobiana

5.1. Métodos de dilución

5.1.1. *Dilución en agar*

Según Malbrán en un medio con agar se incorpora el antimicrobiano a evaluar. El antimicrobiano se añade cuando el medio aún está fundido. Para lograr el rango de dilución esperado se preparan placas, cada una de ellas con una determinada concentración de antimicrobiano; las placas se inoculan con un replicador una vez que se haya solidificado el medio de cultivo; la dilución en agar es un método bien establecido para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos; el agente antimicrobiano se incorpora dentro del medio con agar, de manera tal que cada placa contenga una concentración de antibiótico diferente; para lograr el rango de dilución deseado se prepara una serie de placas, cada una con una determinada concentración de antimicrobiano; los inóculos de los distintos microorganismos se pueden aplicar rápida y simultáneamente sobre la superficie del agar utilizando replicadores. (Malbrán, 2012).

5.1.2. *Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)*

Según Malbrán, la CIM es la mínima concentración de un antimicrobiano que previene el desarrollo visible de un microorganismo en una prueba de sensibilidad por dilución en caldo o agar; es la menor concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación; en el método de microdilución cada una de los pocillos de la placa de microtitulación con pocillos de fondo en “U” representa uno de los tubos del método de macrodilución. (Malbrán, 2012).

El valor de CIM obtenido por el método de dilución, orienta al clínico sobre que concentración de antibiótico necesita alcanzar en el sitio de infección para inhibir el microorganismo infectante; la CIM real puede estar entre la menor concentración de antibiótico que inhibe al microorganismo y la siguiente donde se observa desarrollo del mismo; si por ejemplo, fueran probadas diluciones al medio y se determina una CIM de 16 µg/ml, el verdadero valor podría estar entre 16 y 8 µg/ml. (Malbrán, 2012).

La metodología más común para la determinación de la CIM es la que utiliza diluciones seriadas al medio (por Ej. 1, 2,4, 8,16 µg/ml, etc.); también existen otros esquemas de dilución, que utilizan unas pocas concentraciones (hasta dos), concentraciones "Breakpoint" o que agregan concentraciones entre las que se ensayan normalmente (por Ej. 4, 6, 8, 12, 16 µg/ml); cuando se informa al clínico el resultado de la CIM, el valor debe ser acompañado por su correspondiente interpretación (por Ej. Sensible, intermedio o resistente). (Malbrán, 2012).

5.2. Método de difusión en Agar (Kirby-Bauer)

El método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico; este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas, donde sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas de forma uniforme para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano; a continuación se colocan discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. . (Suárez & Gudiol, 2008).

La elección de los antibióticos a probar depende del germen y del foco de infección; el antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial finalmente se incuba la placa durante 18-24 horas a 37 °C. (Suárez & Gudiol, 2008).

5.3. Métodos automatizados

La identificación de bacterias patógenas aisladas de procesos infecciosos u otras fuentes como alimentos y agua y los resultados de susceptibilidad in vitro constituyen herramientas fundamentales para un manejo eficiente de estos microorganismos por lo que existen hoy en día equipos automatizados que han permitido diseñar sistemas que ofrecen datos de sensibilidad a los antimicrobianos; la mayoría de estos métodos utilizan sistemas de microdilución en medio líquido sobre microplacas con pocillos e interpretan el crecimiento bacteriano en los diferentes pocillos por medio de un autoanalizador (mediciones por turbidez o fluorescencia). (Peña, 2016).

Son métodos ideales para grandes volúmenes de trabajo, ya que permiten obtener resultados de identificación bacteriana y de sensibilidad en un período que oscila entre 2 y 7 h comparado a las 15-24 h que habitualmente demoran los métodos tradicionales; donde los métodos automatizados permiten también al laboratorio de microbiología obtener resultados de identificación y antibiograma reproducibles, con rapidez y precisión, ajustándose a guías internacionales actualizadas; la identificación de las bacterias se basa en la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas con determinados paneles de reacciones bioquímicas; la sensibilidad antimicrobiana se lleva a cabo en forma similar a través de tarjetas que contienen diluciones estandarizadas de distintos antibióticos correspondientes a los puntos de corte de sensibilidad establecidos por el CLSI (Instituto de normas clínicas y de laboratorio). (Peña, 2016).

5.3.1. Equipo automatizado

Es un sistema automatizado de identificación bacteriana y estudio de sensibilidad antimicrobiana; la identificación de las bacterias se basa en la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas las cuales tienen una galería de pruebas bioquímicas, enzimas y sustratos específicos; la sensibilidad antimicrobiana se lleva a cabo en forma similar a través de tarjetas que contienen diluciones estandarizadas de distintos antibióticos correspondientes a los puntos de corte de sensibilidad establecidos por CLSI. (Jordá, et al., 2005).

Existen varios tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

- Tarjeta de identificación de bacterias anaerobias corinebacterias. (ANC)
- Tarjeta de identificación de Bacillus (BCL)
- Tarjeta de identificación para corinebacterias (CBC)
- Tarjeta de identificación de Gram positivos (GP)
- Tarjeta de identificación de Gram negativo (GN)
- Tarjeta de identificación de Neisseria-Haemophilus (NH)
- Tarjeta de identificación de levaduras (YST)
- Tests de sensibilidad antimicrobiana (AST). (Jordá, et al., 2005).

Tarjeta para Gram Negativos

La tarjeta de identificación de Gram Negativos (GN) VITEK 2 está diseñada para la identificación automatizada de los bacilos gram negativos fermentadores y no fermentadores clínicamente más significativos. La tarjeta de identificación GN VITEK- 2 es un producto desechable de un solo uso. (Jordá, et al., 2005).

Metodología empleada para la identificación bacteriana.

La metodología emplea por el VITEK- 2 Systems se basa en la identificación bacteriana a través de la comparación de los resultados obtenidos por perfiles bioquímicos generados por las bacterias con una base de datos preestablecida. (Biomérieux, 2013).

En las tarjetas que emplea el equipo existen pocillos los cuales a su vez contienen sustratos predeterminados, dichos sustratos serán usados por las bacterias de la muestra problema y se obtendrán reacciones específicas; el resultado de este perfil bioquímico será comparado con una base de datos con los perfiles de diferentes géneros y especies de bacteria y se podrá realiza determinación del agente etiológico. (Biomérieux, 2013).

La determinación del perfil bioquímico empleado para la identificación se realiza mediante un sistema óptico de transmitancia el que usa diferentes longitudes de onda del espectro visible para interpretar las reacciones de turbiedad o el color de los productos metabólicos. (Biomérieux, 2013).

Técnicas analíticas de sensibilidad

El sistema evalúa el patrón de crecimiento de cada organismo en presencia del antimicrobiano en relación con el crecimiento registrado en el pocillo de control; para determinar la CIM o un resultado cualitativo, se utilizan varios parámetros en función de las características de crecimiento observadas; el resultado de la CIM debe estar vinculado a una identificación de organismo con el fin de determinar una interpretación de categoría. (Biomérieux, 2013).

6. Criterios de interpretación de las pruebas de susceptibilidad

El CLSI reconoce tres categorías de sensibilidad a los antibióticos para las pruebas de dilución en el manual M100 año 2018:

El CLSI reconoce tres categorías de sensibilidad a los antibióticos para las pruebas de dilución en el manual M100 año 2018:

- **Sensible:** Un microorganismo es sensible si responde a las dosis habituales del antibiótico administrado por una vía adecuada que incluye la vía oral. (Koneman, 2015).
- **Intermedio:** Una sensibilidad intermedia implica que la cepa puede ser inhibida por concentraciones del fármaco que se logran cuando se administran dosis parentales máximas; se puede seleccionar el antibiótico, pero se deben considerar otras opciones que puedan proporcionar un tratamiento más óptimo. (Koneman, 2015).
- **Resistente:** Una bacteria es resistente si no es inhibida por las concentraciones del fármaco que se pueden alcanzar y por lo tanto, el fármaco no debe ser seleccionado para el tratamiento, salvo en ciertos líquidos corporales, en los cuales pueden acumularse concentración altas del antibiótico. (Koneman, 2015).

e. Materiales y métodos

Tipo de estudio

El presente trabajo de investigación fue un estudio de tipo cuantitativo, descriptivo y de corte transversal.

Área de estudio

El estudio se realizó en el Hospital Isidro de Ayora de la ciudad de Loja el cual es un hospital de segundo nivel con una cobertura que abarca la ciudad y provincia de Loja.

Universo

El universo fue representado por todos los usuarios con pedido de urocultivo que asistieron al Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora, el cual fue de 591 muestras.

Muestra

La muestra usada para el presente estudio fue de 173 muestras de *Escherichia coli;* la misma que fue calculada en base a la estadística proporcionada por el Hospital Regional Isidro Ayora, la misma que nos indica que en promedio llegan a laboratorio 181 muestras de *Escherichia coli* en 5 meses.

Una vez obtenido este dato se procedió a reemplazar los valores de la fórmula para calcular el tamaño de muestra:

$$\mathrm{n} = \frac{Z_{\propto}^{2}\ \mathrm{N}\ x\ \mathrm{p}\ x\ \mathrm{q}}{e^{2}(N-1) + Z_{\propto}^{2}\ x\ \mathrm{p}\ x\ \mathrm{q}}$$

Datos:

n= tamaño de la muestra

N= tamaño de la muestra (181 muestras con *E. coli*)

Z2a= nivel de confianza del 95 % (1.96)

P: 0.5

q: 0.5

e: error seleccionado de 2% = 0.02

Fórmula:

$$n = \frac{1.96^2\ 181\ x\ 0.5\ x\ 0.5}{0.02^2(181-1) + 1.96^2\ x\ 0.5\ x\ 0.5}$$

$$n = \frac{3.8416\ x\ 181\ x\ 0.25}{0.004\ (180) + 3.8416\ x\ 0.25}$$

$$n = \frac{173.8324}{0.72 + 0.9604}$$

$$n = \frac{173.8324}{0.72 + 0.9604}$$

$$n = 169$$

Este dato nos indica que la muestra con la que se trabajó es un valor confiable.

Criterios de inclusión

- Pacientes con solicitud de urocultivo que acudan al laboratorio clínico del Hospital Regional Isidro Ayora.
- Cultivos primarios con crecimiento ≥ 1 000 UFC/ml (pacientes inmunodeprimidos, síndrome uretral femenino, punción supra púbica o renal percutánea) o ≥ 100 000 UFC/ml (pacientes inmunocompetentes).
- Muestras donde se aisló *Escherichia coli.*

Criterios de exclusión

- Pacientes que recibieron terapia antibiótica por lo menos 7 días antes.
- Muestras que no se transportaron de acuerdo a las indicaciones dadas. (Indicaciones para la recolección de la muestra de orina en paciente ambulatorios y hospitalizados). (Anexo 1)
- Muestra con espermatozoides o con sangre de origen menstrual.
- Más de 2 patógenos aislados.

Procedimientos

Consta de tres fases:

Fase pre-analítica

1. Autorización para la ejecución del trabajo de investigación por parte del coordinador de docencia e investigación del Hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja para ejecución del Proyecto. (Anexo 2)
2. Autorización por parte de del coordinador de docencia e investigación del Hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja para ejecución de la presente tesis. (Anexo 3)
3. Formato de recolección de datos y consentimiento informado de los usuarios, el mismo que fue revisado y aprobado por el comité de Bioética del Hospital de SOLCA. (Anexo 4)
4. Protocolo para el transporte y almacenamiento de la muestra de orina (Anexo 5).

Fase analítica

1. Protocolo de siembra de muestras por técnica de asa calibrada y conteo de colonias (Anexo 6).
2. Protocolo de identificación bacteriana por método automatizado. (Anexo 7).
3. Protocolo para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias identificadas por el método de concentración inhibitoria mínima (Anexo 8).
4. Protocolo de identificación y confirmación fenotípica de BLEE por medio de sinergia de discos (Anexo 9).
5. Protocolo para la identificación y confirmación fenotípica de AmpC. (Anexo 10).

Fase pos- analítica

1. Formato de recolección de datos para la identificación y susceptibilidad antimicrobiana. (Anexo 11).
2. Evidencia fotográfica (Anexo 12).

f. Resultados

Tabla Nº 1. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada en urocultivos de usuarios del Hospital Isidro Ayora.

ANTIBIÓTICO	Sensible		Intermedio		Resistente		TOTAL	
	F	**%**	**F**	**%**	**F**	**%**	**F**	**%**
Amikacina AN	160	98,59%	0		2	1,40%	162	100 %
Ceftazidime CAZ	123	76,35%	0		35	23,65%	158	100 %
Gentamicina GM	132	85,71%	2	0,68%	31	13,60%	165	100 %
Norfloxacina NOR	17	46,66%	2	6,66%	17	46,66%	36	100 %
Ampicilina/ Sulbactam SAM	67	39,04%	29	18,49%	64	42,46	160	100 %
Ceftriaxona CRO	109	75,69%	0		35	24,30%	144	100 %
Meropenem MEM	33	100%	0		0		33	100 %
Trimetropin sulfametoxazol SXT	62	46,96%	0		70	53,03	132	100 %
Cefepime FEP	121	76,55%	0		34	23,61%	145	100 %
Ciprofloxacina CIP	83	56,84%	3	2,05%	60	41,09%	146	100 %
Nitrofurantoína FT	132	81,15%	18	13,04%	8	5,79%	158	100 %
Amoxicilina/ác. Clavulánico AMC	27	65,38%	7	19,23%	8	15,38	42	100 %

Autor: Sthefany Torres Aguilar

Fuente: Hoja de Registro de Datos de las muestras procesadas 2017-2018

Interpretación:

De todas las muestras procesadas de urocultivos de *Escherichia coli* el antibiótico que mostró mayor sensibilidad fue amikacina con el 98.59% y el antibiótico más resistente fue trimetropin sulfametoxazol con 53.03%. No todas las *Escherichia coli* testearon la misma tarjeta, puesto que se cuenta con 2 tarjetas en el Hospital y según van llegando las muestras se testea una u otra; es por ello que nuestro total es variable sin alcanzar las 173 que se obtuvieron.

Tabla Nº2. Mecanismos de resistencia identificados en *Escherichia coli*

Mecanismos de resistencia identificados en *Escherichia coli*		
	Nº	Frecuencia
BLEE	30	96.77%
AmpC	1	3.23%
Carbapenemasas	0	0%
TOTAL	31	100%

Autor: Sthefany Torres Aguilar

Fuente: Hoja de Registro de Datos de las muestras procesadas 2017-2018

Interpretación:

Del total de cultivos que tuvieron como crecimiento bacteriano a *Escherichia coli* 31 presentaron mecanismos de resistencia. Donde el 96.77% fue BLEE y un único caso de resistencia a betalactámicos tipo AmpC.

Tabla Nº3. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productora de mecanismos de resistencia BLEE y AmpC según sexo, Diciembre 2017-Abril 2018

Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productora de mecanismos de resistencia BLEE y AmpC según sexo, Diciembre 2017-Abril 2018				
Sexo	BLEE		AmpC	
	Nº	Frecuencia	Nº	Frecuencia
Femenino	21	70 %	1	0%
Masculino	9	30%	0	%
TOTAL	30	100%	1	100 %

Autor: Sthefany Torres Aguilar

Fuente: Hoja de Registro de Datos de las muestras procesadas 2017-2018

Interpretación:

El mecanismo de resistencia BLEE se presenta con mayor frecuencia en mujeres con un 67.85% y el mecanismo de resistencia tipo AmpC un único caso en el sexo femenino. Estos resultados concuerdan con la literatura en que las IVU son una de las infecciones más frecuentes en mujeres debido a su condición fisiológica.

Tabla Nº4. ***Escherichia coli productoras de mecanismos de resistencia (BLEE) y AmpC según edad, Diciembre 2017-Abril 2018***

Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productoras de mecanismos de resistencia (BLEE) y AmpC según edad, Diciembre 2017-Abril 2018				
Edad	BLEE		AmpC	
	Nº	Frecuencia	Nº	Frecuencia
Adultos (20 a 59 años)	14	45.17 %	0	0,00%
Adulto Mayor (más de 60 años)	16	53.33%	1	100 %
TOTAL	30	100 %	1	100%

Autor: Sthefany Torres Aguilar

Fuente: Hoja de Registro de Datos de las muestras procesadas 2017-2018

Interpretación: La población estudiada fue en neonatos, lactantes, niños, adolescentes, adultos y adultos mayores, sin embargo el mecanismo de resistencia BLEE se presentó en adultos a partir de 20 años con un 45.17% y adultos mayores de 60 años con un 53.33% y el mecanismo de resistencia tipo AmpC únicamente en adultos mayores de 60años, estos resultados concuerdan con la literatura en que generalmente se manifiestan estos casos en edades sexualmente activas.

Tabla Nº5. ***Escherichia coli productoras de mecanismos de resistencia (BLEE) y AmpC según área de servicio, Diciembre 2017-Abril 2018***

Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productoras de mecanismos de resistencia (BLEE) y AmpC según área de servicio, Diciembre 2017-Abril 2018

ÁREA DE SERVICIO	BLEE		AmpC	
	Nº	Frecuencia	Nº	Frecuencia
Consulta externa	13	43.34%	0	0,00%
Emergencia	15	50 %	1	100%
Hospitalización	2	6.66 %	0	0 %
TOTAL	30	100 %	1	100%

Autor: Sthefany Torres Aguilar

Fuente: Hoja de Registro de Datos de las muestras procesadas 2017-2018

Interpretación: El mecanismo de resistencia BLEE se presentó mayormente en el área de emergencia con un 50% seguida del área de consulta externa con un 43.34% y el mecanismo de resistencia tipo AmpC en el área de Emergencia.

g. Discusión

La infección de vías urinarias se define como la invasión, multiplicación y colonización del tracto urinario, causada en su mayor parte por microorganismos de origen intestinal, como *Escherichia coli* y otras Enterobacterias que pueden llegar a las vías urinarias y producir infección. (Jawetz, 2011).

La presente investigación se la realizó con un total de 591 muestras con pedidos de urocultivos de usuarios del Hospital General Isidro Ayora durante el período Diciembre 2017- Abril 2018, de las cuales 381 eran las que cumplían con los criterios de inclusión, en donde 225 de éstas tuvieron crecimiento bacteriano y de las cuales 173 muestras tuvieron como bacteria a *Escherichia coli;* se estudió la susceptibilidad antimicrobiana de éstas, donde los antibióticos que presentaron mejor sensibilidad fueron amikacina seguido de fosfomicina, y mayor resistencia trimetropin sulfametoxazol seguido de ciprofloxacina; y en 31 de ellas aparecieron mecanismos de resistencia, BLEE para 30 casos y AmpC para 1 caso; con mayor frecuencia en mujeres que en hombre en edad adulta (de 20 a 60 años) y adultos mayores (más de 60años); siendo en el área de emergencia y consulta externa la mayor presencia de mecanismos de resistencia; esto es lo que en muchas ocasiones dificulta el tratamiento terapéutico.

En un estudio realizado en el Hospital Infantil Federico Gómez de la ciudad de México, se estudiaron 457 pacientes, de los cuales 217 (47.48%) fueron niñas y 240 (52.52%) niños, donde el patógeno aislado con más frecuencia fue *E. coli* (312 pacientes, 68.3%); en segundo lugar se consideraron tanto *E.faecalis* como *E. faecium* (42, 9.7%); estos patógenos, junto con *K. pneumoniae* (40, 8.7%), representaron el 86.2% de todos los aislamientos recolectados, sin embargo en comparación con este estudio tenemos que la población fue variada dándose mayor mente en adultos y

adultos mayores, por ello las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron *Eschericha coli* y *K. pneumoniae*, a diferencia de este estudio que se obtuvieron también *E. faecalis* y *E. faecium* debido a la población estudiada, ya que en niños la presencia de este tipo de bacterias es más frecuente debido a que en niños las condiciones higiénicas no son tan buenas como en los adultos y de esta forma la transmisión o infección de vías urinarias por estos patógenos se vuelve más frecuente en esta población.

En otra investigación realizado en el área de consulta externa de todos los hospitales de Colombia por la Organización Sanitas Internacional durante los años 2009-2013, se revisaron un total de 33819 urocultivos con un promedio de 6763 por año, donde también se evidencia que los patógenos más importantes causantes de infección urinaria fueron el grupo de las enterobacterias (*Enterobacteriace*) ocupando el primer lugar *Escherichia coli* con un promedio de (73,6%, lo mismo que ocurre en este estudio realizado; el perfil de resistencia importante de *Escherichia coli* se destacó en antibióticos como fosfomicina de 0,6 y 0,7% durante los años 2012 a 2013 y para cefixima de 3.4%; a diferencia del presente estudio que fue para trimetropin sulfametoxazol con 53.03% , esta resistencia antibiótica se debe a la adquisición de diferentes mecanismos moleculares de resistencia mediante mutaciones puntuales a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre especies relacionadas o diferentes.

Otro artículo realizado en el Hospital de Barbastro, en Huesca, España evaluó la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*, donde a diferencia de nuestro estudio la sensibilidad fue para cefixima 97,8%% y en el nuestro para Amikacina con el 98,59%, sin embargo la semejanza de este estudio se evidencia para nitrofurantoína con una buena sensibilidad en ambos casos, en el presente trabajo con

el 81.15% y en este estudio con el 67.03 %, esto se debe a que la nitrofurantoina responde bien el trato de Infección de vías urinarias y es uno de los fármacos más utilizados en el trato de IVU.

En otro estudio realizado en el Sanatorio Durango, en la Ciudad de México, en el Servicio de Medicina Interna, se estudiaron 78 pacientes que tenían entre 17 y 97 años de edad. La mayor parte de los cuadros sintomáticos de infección de vías urinarias se encontraron en mujeres (75.6%) y en adultos mayores con edad de 61 a 80 años (50%), lo que ocurrió de igual manera en este estudio ya que se presentó con mayor frecuencia en mujeres, esto se puede deber a que las mujeres tienen mayor probabilidad de adquirir infección de vías urinarias, en los microorganismos aislados predominaron *E. coli* (91.5%), *K. pneumoniae* (2.1%), en todos los aislamientos de *E. coli* se identificaron cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE, 38.3 %) y no BLEE (53.2%). Todas las cepas de *E. coli* fueron sensibles a la nitrofurantoína 57.8 % y a amikacina con 87.6 %; aquí a diferencia de nuestro estudio de las 173 muestras que se obtuvieron de *Escherichia coli*, únicamente 30 mostraron el mecanismo de resistencia BLEE y 1 caso AmpC, presentando mayor sensibilidad a amikacina con el 98.59 %, esto nos indica que los aminoglucósidos tienen buena acción farmacológica frente a bacterias causantes de IVU.

Mediante lo mencionado anteriormente en estudios previamente realizados y en el nuestro; confirmamos el problema que existe en relación con la infección de vías urinarias, donde *Escherichia coli* es el agente causal más frecuente; confirmamos que aparecen mecanismos de resistencia en este caso betalactamasas de espectro extendido y AmpC, por lo que conocer la susceptibilidad antimicrobiana de esta bacteria es de gran importancia porque permite realizar una buena opción terapéutica

evitando las resistencias y agravamiento de enfermedades por infección de vías urinarias.

h. Conclusiones

- La susceptibilidad antimicrobiana se determinó por el método automático, donde de todas las muestras procesadas de urocultivos de *Escherichia coli* el antibiótico que mostró mayor sensibilidad fue amikacina con el 98.59% y el antibiótico más resistente fue trimetropin sulfametoxazol con 53.03%

- Los mecanismos de resistencia BLEE (30 muestras) y AmPc (1 muestra) se clasificaron según edad, sexo y área de servicio, siendo más frecuente en mujeres adultas (de 20 a 60 años) y en adultos mayores (más de 60 años) en el área de consulta externa y emergencia con mayor frecuencia.

i. Recomendaciones

- A los directivos de los servicios de salud, profesionales y docentes, realizar campañas de concientización sobre el uso y abuso irracional de los antibióticos, y la automedicación en la población para evitar el desarrollo de mecanismos de multirresistencia situación que provoca un gran problema de salud pública generando grandes costos económicos institucionales como al paciente.
- A los servicios de salud, informar a los usuarios la forma correcta de la administración del antibiótico prescrito por el médico, tanto en el tiempo como en la cantidad exacta indicada y la forma correcta de recolección de la muestra de orina destinada al cultivo.
- Que todos los laboratorios tengan implementado el área de microbiología, (bacteriología) para la detección oportuna de resistencias y así ayudar con la correcta terapia.
- Que se realice una confirmación manual cuando aparezcan muestras sospechosas o productoras de mecanismos de resistencia como son BLEE, AmpC o Carbapenemasas.

j. Bibliografía

Ardanuy, C., Cercenado, E., Morosini, M., & Torres, C. (2011). *Detección Fenotípica de Mecanismos de Resistencia en Gram Negativos*. Obtenido de https://bit.ly/2NXxZqQ

Bailey & Scott. (2007). *Diagnostico microbiologico* (12a. edición ed.). Buenos Aires- Bogata- Caracas- Madrid - Mexico: Medica Panamericana.

bioMérieux. (2013). *VITEK*. Obtenido de https://bit.ly/2OsA7pS

Brunton, L. (2007). *Las bases farmacologicas de la terapéutica* (Undécima edición ed.). Mexico: McGrawHill.

Criollo Gutama, A., Gutierrez Barros, E., & Duran Yaguana, D. (2015). *INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS, DETERMINACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS EN MUJERES DE 18 A 45 AÑOS DE EDAD EN LA CIUDAD DE CUENCA 2014*(Licenciatura). Universidad de Cuenca.

Dubelco, D. (2013). *Preparaores de oposicion para la enseñanza*. Obtenido de https://bit.ly/2qieora

Galas, M., & Whonet, R. (2003). *Servicio ANTIMICROBIANOS. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosos* . Obtenido de https://bit.ly/2PrZ74V

Galiano, A. (2018). NITROFURANTOINA EN VADEMECUM. Retrieved from https://bit.ly/1FgfPKU

Galiano, A. (2018). FOSFOMICINA EN VADEMECUM. Retrieved from https://bit.ly/2OVai6W

Guevara P, Armando, Machado B, Sara, & Manrique T, Esther. (2011). Infecciones urinarias adquiridas en la comunidad: epidemiología, resistencia a los antimicrobianos y opciones terapéuticas. *Kasmera*, *39*(2), 87-97. Recuperado en 29 de octubre de 2018, de https://bit.ly/2RkxBDS

Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E., Brooks, G., & Cavallo, R. (2011). *Jawetz, Melnick and Adelberg's Microbiologia medica*. Padova: Piccin.

Jordá, L., Vila, A., Lanza, A., Bonvehi, P., Nazar, J., Mikietuk, A., . . . Smayevsky, J. (2005). *Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana.* Retrieved from Acta Bioquímcaica Clín Latinoamericana: https://bit.ly/2PrZb4F

Juan, P. (Octubre de 2000). *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Obtenido de https://bit.ly/2Pi5xk2

Koneman, E. (2015). *Diagnóstico Microbiológico* (Sexta ed.). Madrid: editorial medica panamerica.

Lorenzo Fernández, P. (2015). Velázquez, farmacología básica y clínica. Madrid: Panamericana.

López-Martínez, Briceida, Calderón-Jaimes, Ernesto, Olivar-López, Víctor, Parra-Ortega, Israel, Alcázar-López, Virginia, Castellanos-Cruz, María del Carmen, & de la Garza-López, Alicia. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de infección de vías urinarias bajas en un hospital pediátrico. Boletín médico del Hospital Infantil de México, 71(6), 339-345. https://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.01.001

Malbrán, C. (Junio de 2012). *Metodo de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución*. Obtenido de https://bit.ly/2P0y81d

Murray, R. P. (2013). Microbiologia Medica. En *Sexta Edicion* (págs. 269-270). Barcelona, España: Elsevier España, S.L.

Norman, F. (2018). Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios - AEMPS. Retrieved from https://bit.ly/2OZMkr9

Nocua Baez, L., Cortés, J., Arias, G., & Ovalle Guerrero, M. (2017). Perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes con diabetes mellitus en Colombia. *Biomédica*. Retrieved from https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i3.3348

OMS. (2004). *OMS Hojas de información microbiológica.* Obtenido de https://bit.ly/2RkZn3i

OMS. (2016). *OMS Organización Mundial de la Salud.* Obtenido de https://bit.ly/1ifzmg8

Peña, I. (2016). *Enterobacterias productoras de carbapenemasas: tipos, epidemiología.* Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Madrid. Recuperado el 07 de 2017, de https://bit.ly/2zfYyB5

Perez & Robles . (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica, 4*(3), 186-191.

Picazo. (2001). *Procedimientos en microbiologia Clinica*. Obtenido de Metodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos: https://bit.ly/2COkGWG

Pigrau Serrallach, C. (2013). Infección del tracto urinario. [Barcelona]: Salvat.

Rául, R. C. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana* (3ra edición ed.). Mexico: Editorial Medica Panamericana.

Rodriguez Costa, P. (2010). *"INCIDENCIA DE INFECCIONES URINARIAS CAUSADAS POR BACTERIAS ENTERICAS GRAM NEGATIVAS EN MUJERES EMBARAZADAS DEL AREA DE GINECOLOGIA DEL HOSPITAL REGIONAL"ISIDRO*

AYORA" DURANTE EL PERIODO JUNIO - OCTUBRE 2010". Bioquimico Farmaceutico. Universidad Tecnica Particular de Loja.

Salim Máttar, P. M. (2007). Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. *Revista Infectio, 11*. Obtenido de https://bit.ly/2OUnkBD

Santambrosio, I. E. (2009). *Universidad Tecnologica Nacional* . Obtenido de https://bit.ly/2nK6Dve

Suárez, C., & Gudiol, F. (2008). Antibioticos betalactamicos (1st ed.). Barcelona.

Villicaña, D. J. (2007). *Atlas Bacteriológico.* México, México: Comarketing Editorial, S.A. de C.V.

k. Anexos

ANEXO 1. INDICACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE ORINA EN PACIENTE AMBULATORIOS Y HOSPITALIZADOS

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

Retraer el prepucio dejando al descubierto la cabeza del pene, lavar con agua y jabón y secar

Recoger la parte media de la micción para esto orine primero fuera del frasco, continué 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 al laboratorio en el plazo de 2 horas.

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

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

TOMA DE MUESTRAS DE ORINA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS

A. ORINA OBTENIDA A TRAVÉS DE CATETERISMO TRANSURETRAL

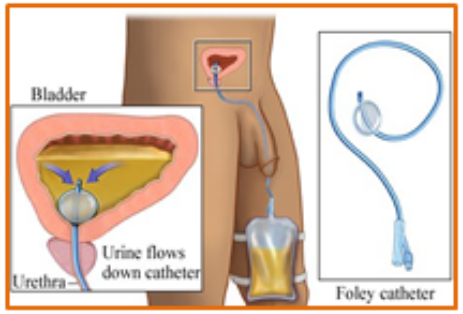
TÉCNICA DE RECOLECCIÓN: Realizar higiene de genitales con guantes no estériles. Eliminar la primera porción de orina obtenida, colectar la siguiente porción de orina (5-10 mL) en el frasco estéril, retirar la sonda y tapar el frasco

FRASCO ESTÉRIL

B. ORINA OBTENIDA A TRAVÉS DE SONDA VESICAL.

Realizar desinfección del cono de la sonda con alcohol al 70% o solución yodada. *No enviar orina que ha estado depositada en la bolsa colectora.*

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN: Puncionar la sonda con jeringa estéril con aguja de calibre pequeño, aspirar 5 a 10 mL de orina, retirar jeringa. *Envasar en el frasco estéril, manteniendo la técnica aséptica*



C. PACIENTES SIN CONTROL DE ESFÍNTER

Realizar higiene de genitales y secar adecuadamente. Colocar bolsa recolectora, si la micción no se da en 20 minutos se deberá repetir el aseo y colocar nueva bolsa.

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN: Colocar bolsa plástica adherente, verificando ausencia de fugas. Estar atento cuando elimine, *para retirar pronto la bolsa y evitar derramamiento o contaminación de la muestra.* Son suficientes 5 - 10 mL de orina.

NOTA: Las muestras tomadas deben ser enviadas al laboratorio lo más pronto posible, hasta un máximo de 2 horas. Colocar las muestras en hielo seco y garantizar la calidad de muestra.

ANEXO 2. AUTORIZACIÓN PARA EL DESARROLLO DEL PROYECTO

1859

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

ANEXO 3. CERTIFICACIÓN PARA EL DESARROLLO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN "SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ESCHERICHIA COLI CAUSANTE DE INFECCION DE VIAS URIANARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA, LOJA"

Ministerio de Salud Pública

HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
Laboratorio Clínico

Loja, 26 de Octubre del 2018

Lcdo. Ángel Luzón Ramírez
SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN DE APOYO DIAGNÓSTICO Y TERAPEÚTICO DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

CERTIFICO:

Que la Srta. STHEFANY CECIBEL TORRES AGUILAR con C.I. 1104283773, realizó en el Hospital General Isidro Ayora de la ciudad de Loja, el proyecto de investigación "SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTE DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN USUARIOS DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA, LOJA", el cual se realizó dentro del proyecto de investigación denominado "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BETALACTAMASAS AISLADAS DE MUESTRAS DE ORINA PROCEDENTES DE HOSPITALES ISIDRO AYORA Y SOLCA LOJA 2017".

Es todo lo que puedo certificar en honor a la verdad, y autorizo al interesado hacer uso del presente para lo que estime conveniente.

Ministerio de Salud Pública
Lic. Angel Luzón R.
SUBDIRECTOR DE ESPECIALIDADES DE APOYO DIAGNOSTICO Y TERAPEUTICO

Lcdo. Ángel Luzón Ramírez

SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN DE APOYO DIAGNÓSTICO Y TERAPEÚTICO DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

ANEXO 4. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Hospital		Servicio			
Edad		Género			
Profesión		Procedencia			
Tipo de muestra		Hospitalizado	Si	No	
Sondas, catéteres	Si	No	Hora de llegada al laboratorio		
Hora de la toma de muestra					
¿Consume antibióticos con regularidad?	Si	No	¿Por qué?		
¿Consume pollo, huevos o leche?	Si		No		
Primera vez con infección de vías urinarias	Si	No	Recurrente (2 o más veces al año)	Si	No
¿Supo qué bacteria le causó la infección?	Si	No	¿Cuál?		
¿Qué antibiótico o antibióticos usó?			¿Por cuánto tiempo?		
¿Cumplió el tratamiento?	Si	No	¿Por qué?		

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.

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**

ANEXO 5. PROTOCOLO PARA EL TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA DE ORINA.

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	Protocolo para el transporte de la muestra de orina	**CÓDIGO:** PB04 **REVISIÓN:** 01 **Ed:** 01 **FECHA:** 10-11-2017 **PAGINA:** 1/4

Introduccion

La obtención y el transporte de muestras son etapas fundamentales en el diagnóstico clínico y en la investigación. Para mantener la integridad de las muestras se deberá tener en cuenta los procedimientos de obtención, transporte, condiciones de conservación, destino final y bioseguridad.

El control de estos proporcionará valor a las muestras asegurando la calidad y estabilidad para obtener resultados confiables y oportunos.

El transporte de muestras biológicas tiene importancia a nivel mundial ya que un manejo incorrecto de sustancias con agentes infecciosos puede ocasionar morbilidad y mortalidad (Rodriguez T. , 2013).

Objetivo

- Determinar los pasos y requerimientos necesarios para garantizar el transporte adecuado de las muestras biológicas dentro de los parámetros requeridos para su análisis posterior

Alcance

Este procedimiento forma parte del proyecto "Caracterización Molecular de Betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los Hospitales Isidro Ayora,

Loja" que garantizará el correcto transporte de muestras de urocultivo del Hospital Isidro Ayora hacia el CDM para su análisis posterior.

Responsables:

- ESTUDIANTES: transporte de muestras.
- DOCENTES/INVESTIGADORES: validación del procedimiento.

Materiales:

- Cooler hermético
- Medio de transporte Stuart
- Medios de cultivo Agar Sangre

Procedimiento:

Transporte en el Hospital Isidro Ayora:

Una vez analizada la muestra e identificado el germen, y en el caso de que el equipo reporte un resistencia BLEE, procedemos a tomar un medio de transporte Stuart retiramos el hisopo y recolectamos dos colonias representativas del cultivo para llevar a confirmar BLEE.

Se rotula el medio de Stuart con el código del paciente de cada una de las muestras que nos reportaron sospechosas de BLEE, se las guardas en el cooler hermético sin hielo y se las transporta al CDM.

Observaciones

- Debe ser transportada por personal capacitado en recipientes de material sólido, impermeable y de fácil limpieza.
- El contenedor debe tener papel absorbente en el fondo para eventuales derrames.

Referencias Bibliográficas

Rodriguez, T. (2013). *Cursep*. Obtenido de http://www.higiene.edu.uy/parasito/cursep/Transp.pdf

ELABORADO POR:	REVISADO Y APROBADO POR:
- **Jara Edgar** - **Ramón Diana**	**Lic. Carmen Ullauri**

ANEXO 6. PROTOCOLO DE SIEMBRA DE MUESTRAS POR TÉCNICA DE ASA CALIBRADA Y CONTEO DE COLONIAS

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:** **PÁGINA: 1/3**

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).

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.

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.

Responsables:

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

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

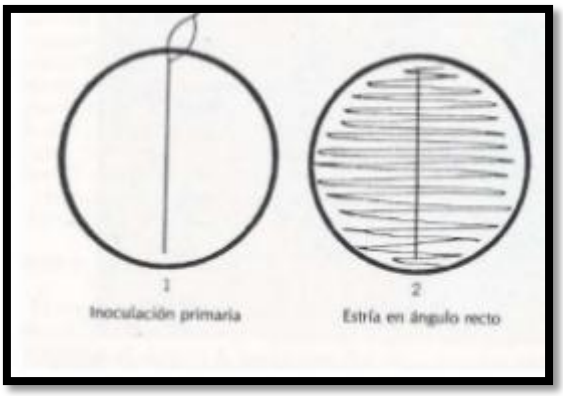
- Muestra a estudiar

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

Técnica de estría



Lectura de cultivo en UFC/ml

- 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.

Observaciones

- La siembra debe realizarse de la orina sin centrifugar con un asa calibrada, lo que permitirá obtener una estimación semicuantitativa del desarrollo microbiano.
- Marcar las cajas antes de empezar a trabajar
- No hablar durante la siembra
- Flamear el asa antes de realizar la serie de estrías y enfriar en una orilla**.**
- 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

Referencias Bibliográficas

- Lopardo, D. H. (26 de Enero de 2015). Obtenido de BritaniaLab.com: http://www.laensenadacorp.com/documentos/ApunteIII-UROCULTIVO.pdf
- Santambrosio, I. E. (2009). *Universidad Tecnologica Nacional* . Obtenido de https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoIII.pdf

ELABORADO POR:	REVISADO Y APROBADO POR:
- **Jara Edgar** - **Ramón Diana** - **Torres Sthefany**	**Lic. Carmen Ullauri**

ANEXO 7. PROTOCOLO DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA POR MÉTODO AUTOMATIZADO.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	Identificación bacteriana en el equipo automatizado VITEK.	**CÓDIGO:** PB04 **REVISIÓN:** 01 **Ed:** 01 **FECHA:** 10-11-2017 **PAGINA:** 1/4

Introducción:

VITEK® 2 Systems identifica un organismo mediante una metodología basada en las características de los datos y el conocimiento acerca del organismo y las reacciones que se analizan. Se han recogido datos suficientes de cepas conocidas como para estimar las reacciones típicas de las especies solicitadas a un juego de perfiles bioquímicos discriminantes. Si no se reconoce un patrón de identificación único, se presenta una lista de organismos posibles o se determina que la cepa está fuera del alcance de la base de datos. El informe de laboratorio impreso contiene sugerencias de los tests complementarios necesarios para completar la identificación. Si los tests no son suficientes para completar la identificación, deberán consultarse las referencias y la bibliografía microbiológica estándar.

La tarjeta de identificación de Gram negativos (GN) VITEK® 2 está diseñada para ser utilizada con VITEK® 2 Systems para la identificación automatizada de los bacilos gram negativos fermentadores y no fermentadores clínicamente más significativos. La tarjeta de identificación GN VITEK® 2 es un producto desechable de un solo uso.

La tarjeta GN se basa en métodos bioquímicos establecidos (1, 2, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 22, 23, 25) y sustratos recientemente desarrollados para medir la utilización de la fuente de carbono, las actividades enzimáticas y la resistencia. Existen 47 tests bioquímicos y un pocillo de control negativo. El pocillo Control negativo de descarboxilasa (pocillo 52) se usa como referencia basal para los pocillos de análisis de descarboxilasa. Se obtienen resultados finales en aproximadamente 10 horas o menos. (bioMérieux, 2013)

Objetivo:

- Definir o establecer los pasos necesarios que garanticen que el procedimiento de preparación e identificación de muestras en el equipo automatizado VITEK sea efectuado de manera correcta.

Alcance:

El presente protocolo se cumplirá en el marco del proyecto de investigación **"**Caracterización molecular de betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los hospitales Isidro Ayora y SOLCA de Loja**"**. Lo que asegurará su correcta realización.

Responsables:

- ESTUDIANTES: aplicación del procedimiento, registro de resultados.
- DOCENTES/INVESTIGADORES: validación.
- COLABORADORES: aplicación procedimiento, validación de datos y llenado de registros.

Materiales:

- Tarjeta de identificación bacteriana que viene con el equipo.
- Solución salina estéril (NaCl acuoso al 0,45 a 0,50 %, con un pH de 4,5 a 7,0).
- Tubos de ensayo desechables de plástico transparente (poliestireno) limpios de 12 x 75 mm.
- Medio de cultivo apropiado (Mack Conkey)
- Bastoncillos o torundas estériles.
- Dispensador de solución salina de volumen ajustable.
- Asas desechables.
- Tubos de ensayo con solución salina ya dispensada (NaCl acuoso al 0,45 – 0,50 %, con un pH de 4,5 a 7,0).

Procedimientos

- Prepare el inóculo a partir de un cultivo puro (muestra sembrada en agar Mack Conkey), según las buenas prácticas de laboratorio.
- Siga uno de estos pasos: Elija colonias aisladas de una placa primaria si se satisfacen los requisitos del cultivo. O subcultive el organismo a analizar en el medio de agar apropiado e incúbelo adecuadamente.
- Transfiera asépticamente 3,0 mL de solución salina estéril (NaCl acuoso al 0,45 – 0,50 %, con un pH de 4,5 a 7,0) en un tubo de ensayo de plástico transparente (poliestireno) de 12 x 75 mm.
- Utilice un palillo o torunda estériles para transferir una cantidad suficiente de colonias morfológicamente similares al tubo con solución salina preparado en el paso 3. Prepare una suspensión homogénea de organismo con una densidad equivalente a McFarland N°. 0,50 a 0,63 utilizando un densitómetro. El tiempo de suspensión no debe superar los 30 minutos antes de inocular la tarjeta de identificación bacteriana.
- Coloque el tubo con la suspensión y la tarjeta en donde corresponde en el equipo de acuerdo al manual de usuario.
- Eliminar correctamente los desechos biológicos peligrosos y todo el material utilizado como corresponda, ya sea en desechos comunes, cortopunzantes o especiales.
- El software compara el conjunto de reacciones de tests con el conjunto de reacciones previstas de cada organismo o grupo de organismos que pueda identificarse con el producto.
- Se calcula un valor cuantitativo (el porcentaje de probabilidad), que representa el nivel de comparación entre las reacciones observadas y las reacciones habituales de cada organismo.

- Se obtiene la identificación y resultados a ser interpretados por quien corresponda (bioMérieux, 2013).

Observaciones

- Debe realizarse una tinción de Gram con el fin de determinar la reacción de Gram y morfología de un organismo antes de seleccionar qué tarjeta de identificación usar para inocular.

Referencias Bibliográficas

BIOMÉRIEUX. (2013). *VITEK 2 - technology*. USA. Obtenido de www.biomerieux.com

ELABORADO POR:	**REVISADO Y APROBADO POR:**
Torres Sthefany	**Dra. Sandra Freire**

ANEXO 8. PROTOCOLO PARA DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS BACTERIAS IDENTIFICADAS POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA

Nombre: Determinación de la CIM mediante la técnica de microdilución

Concepto: se utiliza test de sensibilidad antimicrobiana para determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) la cual indica la concentración necesaria de un antimicrobiano para inhibir los organismos infecciosos en el lugar de la infección.

Objetivo: Determinar la concentración inhibitoria mínima de *Escherichia coli.*

Materiales

- Solución salina estéril
- Asas, bastoncillos o torundas estériles
- Medio de cultivo Muller-Hinton en caldo
- Cepas control de *Escherichia coli* 25922
- Micropipetas para dispensar volúmenes de 100 a 1000 ul
- Puntas de pipeta desechables
- Tubos de ensayo
- Tapas de tubos de ensayo

Procedimiento:

1. Elegir una colonias aislada de una placa primaria si se satisfacen los requisitos del cultivo
2. Subcultivar el organismo a analizar en el medio de agar apropiado e incúbelo adecuadamente
3. Transferir asépticamente 3,0 mL de solución salina estéril en un tubo de ensayo de plástico transparente

4. Utilice un palillo o torunda estériles para transferir una cantidad suficiente de colonias morfológicamente similares al tubo con solución salina preparado en el paso 2
5. Prepare una suspensión homogénea de organismo con una densidad equivalente al patrón McFarland.
6. Para una dilución automática: Colocar el tubo de suspensión preparado en el paso 3 en el casete con o sin una tarjeta de identificación. En la posición siguiente del casete, coloque un tubo vacío y una tarjeta AST, estas tarjetas pueden contener algunos antimicrobianos que no han demostrado ser eficaces para el tratamiento de infecciones debido a todos los organismos que pueden ser analizados .El instrumento realiza automáticamente la dilución de la suspensión bacteriana para obtener un inóculo adecuado para la tarjeta de sensibilidad.

Observaciones

- Verificar el nivel de la solución salina después del llenado. Si una tarjeta se ha llenado incorrectamente, por el nivel de solución salina en el tubo no cargar la tarjeta.
- Seguir las instrucciones para la eliminación de los desechos biológicos peligrosos.

Referencias bibliográficas

Malbrán, C. (Junio de 2012). *Metodo de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución*. Obtenido de http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf

ELABORADO POR:	REVISADO Y APROBADO POR:
Torres Sthefany	**Lic. Carmen Ullauri**

ANEXO 9. PROTOCOLO DE IDENTIFICACIÓN Y CONFIRMACIÓN FENOTIPICA DE BLEE POR MEDIO DE SINERGIA DE DISCOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA **FACULTAD DE LA SALUD HUMANA** **LABORATORIO CLÍNICO**	**IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA DE BLEE**	**CÓDIGO:** PB07 **REVISIÓN:** 01 **Ed:** 01 **FECHA:** 10-11-2017 **PAGINA:** 1/6

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

Sinergia de discos:

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

Discos combinados:

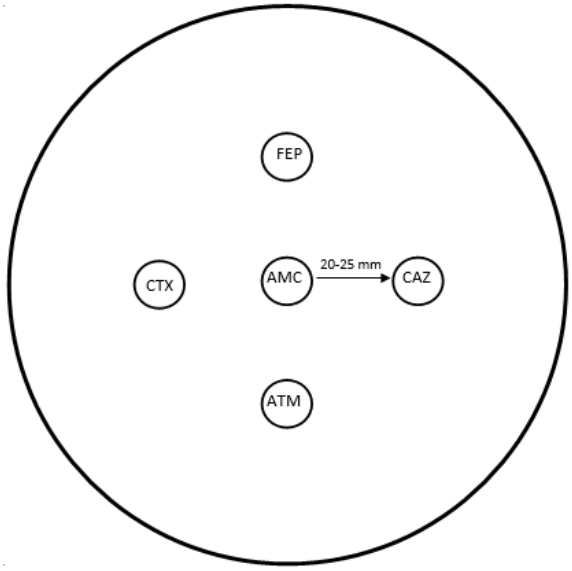
- ✓ Ceftazidime 30 ug
- ✓ Ceftazidime + Ác. Clavulánico 30/10 ug
- ✓ Cefotaxime
- ✓ Cefotaxime + Ác. Clavulánico 30/10 ug

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.

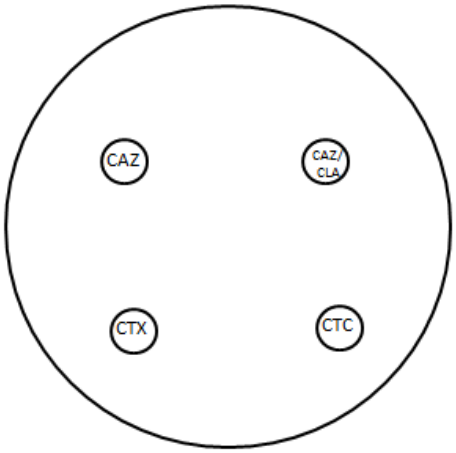


9. Finalmente se coloca en la incubadora con una temperatura de 35ºC y se realiza la lectura dentro de las 16-20 horas siguientes.
10. Repetir el mismo proceso con la cepa control positivo y negativo.

-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:
- **Jara Edgar** - **Ramón Diana** - **Torres Sthefany**	**Lic. Carmen Ullauri**

ANEXO 10. PROTOCOLO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CONFIRMACIÓN FNOTÍPICA 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** **PÁGINA: 1/4**

1. INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO

Betalactamasas Amp C: 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 Amp C 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 de discos.

2. OBJETIVO

Detectar por el método de sinergia 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 Amp C 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:

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 Amp Cp

Estudiantes: Tamizaje de cepas probables productoras de enzimas Amp Cp y procesamiento.

5. MATERIALES

- Cefotaxima (30 ug)
- Ceftazidima (30 ug)

- Cefepime (30 ug)
- Ácido fenil borónico (400 µg)
- Cloxacilina (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 minutos.

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 cloxacilina y 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).

Consideraciones: Hay que tener en cuenta los diámetros de inhibición con el fin de ajustar la distancia de separación entre los discos.**NOTA:** Si se trata de una Amp C 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.

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** **PÁGINA: 3/4**

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.

NOTAS:

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

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**

ANEXO 11. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA LABORATORIO CLÍNICO	FORMATO DE IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	**CÓDIGO:** RG001 **REVISIÓN: 1 EDICIÓN:1** **FECHA: 22-11-2017** **PÁGINA: 1/1**

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			AN	AM	SAM	CF	FEP	CTX	CAZ	CRO	CXM	CIP	ETP	ESB	FOS	GM	MEM	FT	NOR	SXT		
			EME	UCI	GIN	NEO	CRG	OTROS																								

EME: Emergencia; **UCI**: unidad de cuidados intensivos; **GIN**: ginecología; **NEO:** neonatología; **CRG**: Cirugía.; **S:** sensible; **R:** resistente; **AN:** amikacina; **AM:** ampicilina; **SAM:** ampicilina/sulbactam; **CF**: cefalotina; **FEP:** cefepime; **CTX:** cefotaxime; **CAZ:** ceftazidime; **CRO:** ceftriaxona; **CXM:**cefuroxime; **CIP:** criprofloxacina; **ETP:** ertapenem; **ESB:** ESBL; **FOS:** fosfomicina; **GM:** gentamicina; **MEM:** meropenem: **FT:** nitrofurantoina; **NOR:**norfloxacina; **SXT:** Trimetropim/ sulfametoxazol.

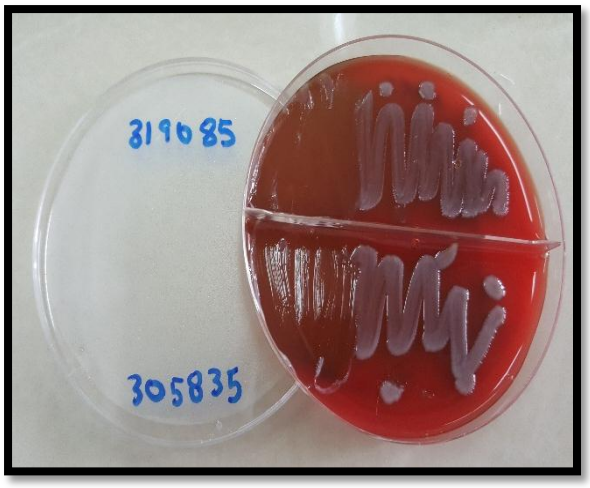
Nota:

- **Presuntivas de expresar BLEE:** Que tengan una CMI de ≥ a 1 ug/ml de ceftazidime, aztreonam o ceftriaxona.
- **Presuntivas de expresar AmpC:** Que tengan 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.
  - **Presuntivas de expresar carbapenemasas:** En el caso de Enterobacterias: CMI de ≥ a 1 ug/ml para meropenem, ≥ 2 ug/ml de imipenem. En el caso de Acinetobacter una CIM de ≥ 4 ug/ ml para imipenem
  - 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.

ANEXO 12. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA

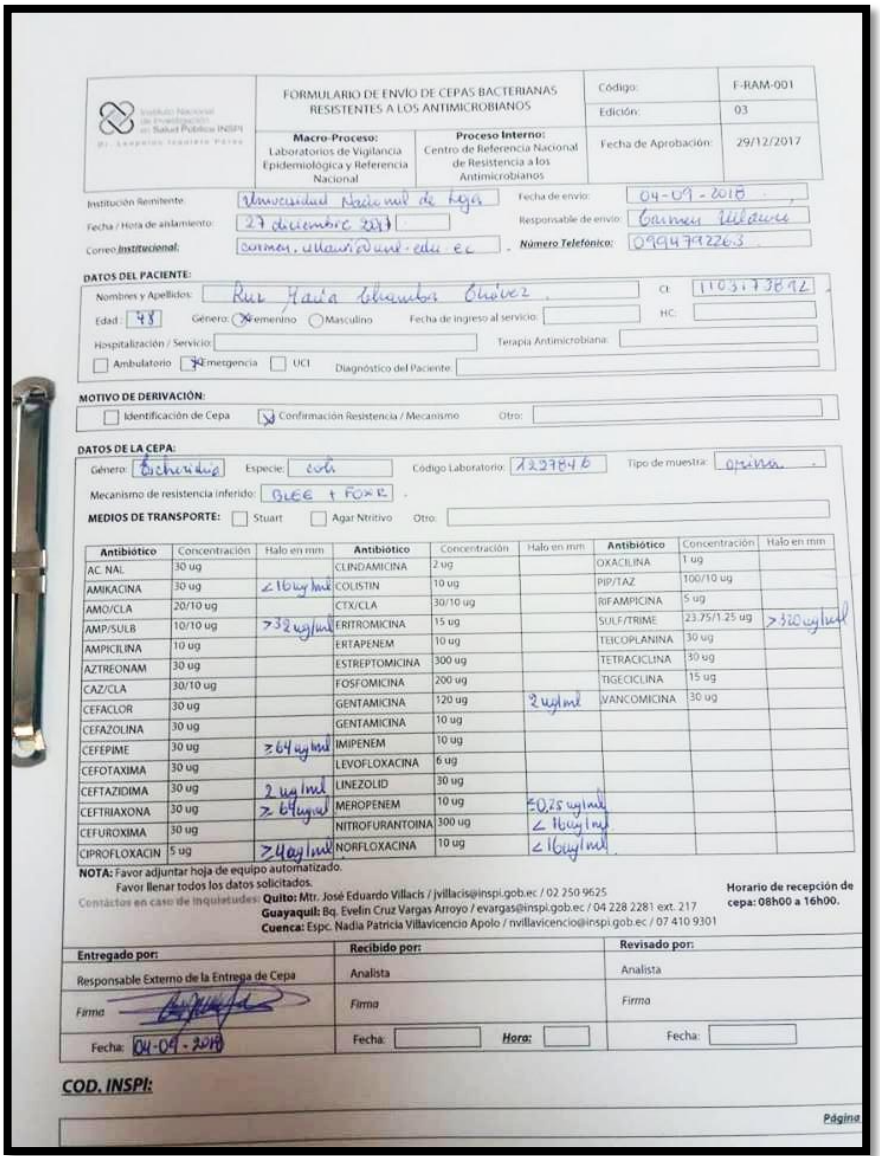
Comprobación del crecimiento normal
del control positivo.

Preparación de los inóculos para la posterior siembra y distribución de los discos.



Crecimiento de colonias de *Escherichia coli* en Agar sangre.

Sinergia de discos y ampliación de los halos (posible AmpC).



FORMULARIO DE ENVÍO DE CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES A LOS ANTIMICROBIANOS

Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Código:	F-RAM-001
		Edición:	03
		Fecha de Aprobación:	29/12/2017

Institución Remitente: Universidad Nacional de Loja
Fecha de envío: 04-09-2018
Fecha / Hora de aislamiento: 27 diciembre 2018
Responsable de envío: Carmen Villavicencio
Correo Institucional: carmen.villavicencio@unl.edu.ec
Número Telefónico: 0994792263

DATOS DEL PACIENTE:
Nombres y Apellidos: Ruiz María Eduarda Chávez
CI: 1103173892
Edad: 48 Género: (X) Femenino ( ) Masculino Fecha de ingreso al servicio:
HC:
Hospitalización / Servicio:
Terapia Antimicrobiana:
[ ] Ambulatorio [X] Emergencia [ ] UCI Diagnóstico del Paciente:

MOTIVO DE DERIVACIÓN:
[ ] Identificación de Cepa [X] Confirmación Resistencia / Mecanismo Otro:

DATOS DE LA CEPA:
Género: Escherichia Especie: coli Código Laboratorio: 1227846 Tipo de muestra: orina
Mecanismo de resistencia inferido: BLEE + FOXR
MEDIOS DE TRANSPORTE: [ ] Stuart [ ] Agar Nutritivo 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	<16 ug/ml	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	>32 ug/ml	ERITROMICINA	15 ug		SULF/TRIME	23.75/1.25 ug	>320 ug/ml
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	2 ug/ml	VANCOMICINA	30 ug	
CEFAZOLINA	30 ug		GENTAMICINA	10 ug				
CEFEPIME	30 ug	≥64 ug/ml	IMIPENEM	10 ug				
CEFOTAXIMA	30 ug		LEVOFLOXACINA	6 ug				
CEFTAZIDIMA	30 ug	2 ug/ml	LINEZOLID	30 ug				
CEFTRIAXONA	30 ug	≥ 64 ug/ml	MEROPENEM	10 ug	≤0,25 ug/ml			
CEFUROXIMA	30 ug		NITROFURANTOINA	300 ug	< 16 ug/ml			
CIPROFLOXACIN	5 ug	≥4 ug/ml	NORFLOXACINA	10 ug	< 16 ug/ml			

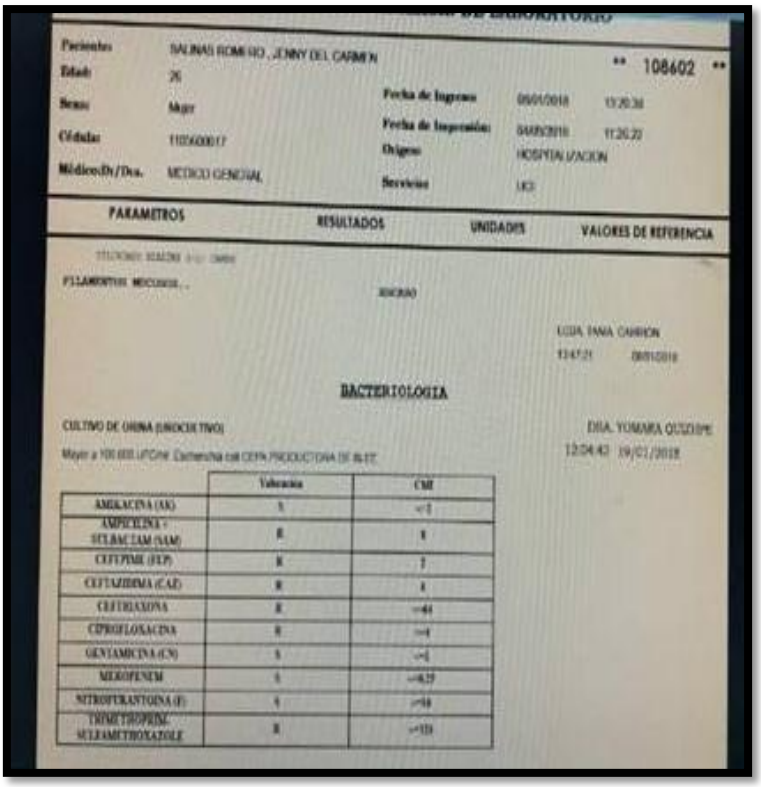
NOTA: Favor adjuntar hoja de equipo automatizado.
Favor llenar todos los datos solicitados.
Contactos en caso de inquietudes: Quito: Mtr. José Eduardo Villacís / jvillacis@inspi.gob.ec / 02 250 9625
Guayaquil: Bq. Evelin Cruz Vargas Arroyo / evargas@inspi.gob.ec / 04 228 2281 ext. 217
Cuenca: Espc. Nadia 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: 04-09-2018	Fecha: Hora:	Fecha:

COD. INSPI:

Página

Muestra de *Escherichia coli* con resistencia tipo AmpC enviada al ISPI



Paciente: SALINAS ROMERO , JENNY DEL CARMEN ** 108602 **
Edad: 26
Sexo: Mujer
Cédula: 1102600017
Médico/Dr/Dra. MEDICO GENERAL
Fecha de Ingreso: 09/01/2018 13:20:38
Fecha de Impresión: 04/01/2018 11:26:22
Origen: HOSPITALIZACION
Servicio: UCI

PARAMETROS	RESULTADOS	UNIDADES	VALORES DE REFERENCIA

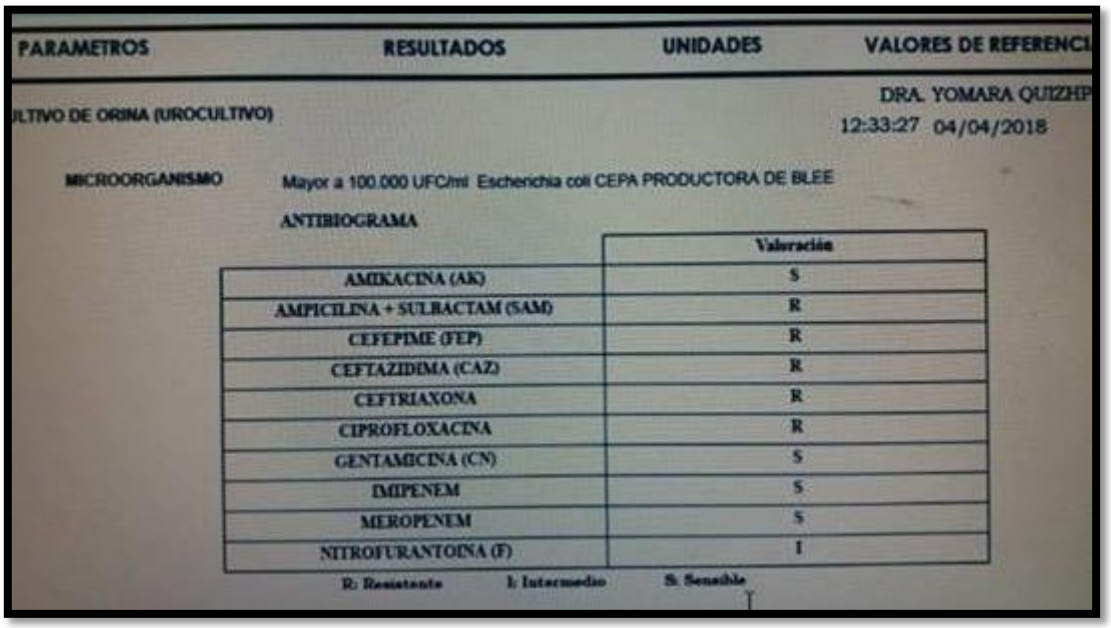
BACTERIOLOGIA

CULTIVO DE ORINA (UROCULTIVO)

DRA. YOMARA QUIZHPE
12:04:42 19/01/2018

	Valoración	CMI
AMIKACINA (AK)	S	<=2
AMPICILINA + SULBACTAM (SAM)	R	8
CEFEPIME (FEP)	R	2
CEFTAZIDIMA (CAZ)	R	8
CEFTRIAXONA	R	>=64
CIPROFLOXACINA	R	>=4
GENTAMICINA (CN)	S	<=1
MEROPENEM	S	<=0.25
NITROFURANTOINA (F)	S	<=64
TRIMETROPRIM SULFAMETHOXAZOLE	R	>=320

Resultados de análisis de laboratorio de *Esherichia coli* productora de BLEE



PARAMETROS	RESULTADOS	UNIDADES	VALORES DE REFERENCI

ULTIVO DE ORINA (UROCULTIVO)

DRA. YOMARA QUIZHP
12:33:27 04/04/2018

MICROORGANISMO Mayor a 100.000 UFC/ml Escherichia coli CEPA PRODUCTORA DE BLEE

ANTIBIOGRAMA

	Valoración
AMIKACINA (AK)	S
AMPICILINA + SULBACTAM (SAM)	R
CEFEPIME (FEP)	R
CEFTAZIDIMA (CAZ)	R
CEFTRIAXONA	R
CIPROFLOXACINA	R
GENTAMICINA (CN)	S
IMIPENEM	S
MEROPENEM	S
NITROFURANTOINA (F)	I

R: Resistente I: Intermedio S: Sensible

Resultados de análisis de laboratorio de *Esherichia coli* productora de BLEE

Equipo de trabajo matutino del Macroproyecto “CARACTERIZACION MOLECULAR DE BETALACTAMASAS AISLADAS EN MUESTRAS DE ORINA PROCEDENTES DE LOS HOSPITALES ISIDRO AYORA Y SOLCA DE LOJA”

ANEXO 13. CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN DEL RESUMEN

Sr. Carlo Chuchuca P.

CERTIFICADA EN SUFICIENCIA DE INGLES POR CANADIAN HOUSE CENTER

CERTIFICA:

Que he realizado la traducción de español a Inglés del artículo científico y resumen derivado de la tesis: **"Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Hospital Isidro Ayora, Loja"**

De la autoría de la Señorita: ***Sthefany Cecibel Torres Aguilar,*** portadora de la cédula de identidad número 1104283773, egresada de la carrera Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, la misma que se encuentra bajo la dirección de la Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando al interesado hacer uso del presente en lo que estime conveniente.

Loja, 31 de octubre del 2018.

Sr. Carlos Chuchuca P.

CERTIFICADA EN SUFICIENCIA DE INGLES POR CANADIAN HOUSE CENTER