



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

Título

**“Agentes bacterianos causantes de
infección de vías urinarias en mujeres que
asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja)”**

Tesis previa a la obtención del título
de Licenciado de Laboratorio Clínico

AUTOR:

Tayron Alberto Celly Campoverde

DIRECTORA:

Dra. María de los Ángeles Sánchez Tapia, Esp.

LOJA – ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

Dra. María de los Ángeles Sánchez Tapia, Eps.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICO:

Que la presente tesis titulada: “**AGENTES BACTERIANOS CAUSANTES DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN MUJERES QUE ASISTEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA (LOJA)**”, de autoría del Sr. **TAYRON ALBERTO CELLY CAMPOVERDE**, previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido supervisada y elaborada bajo mi dirección por lo que certifico que cumple con los requisitos establecidos por el Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez revisada autorizo su presentación ante el tribunal correspondiente

Loja, 24 de Agosto de 2018

Atentamente:



Dra. María de los Ángeles Sánchez Tapia, Eps.

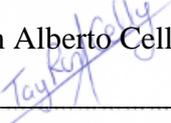
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo **TAYRON ALBERTO CELLY CAMPOVERDE** con Cl. 1105704165 declaro ser autor del presente trabajo de investigación, y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

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

Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

Firma:  _____

Cedula: 1105704165

Loja, 24 de Agosto 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Tayron Alberto Celly Campoverde, declaro ser autor de la tesis titulada: “**AGENTES BACTERIANOS CAUSANTES DE INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN MUJERES QUE ASISTEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA (LOJA)**” como requisito para optar al grado de Licenciado en Laboratorio Clínico; autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

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

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veinticuatro días del mes de Agosto del dos mil dieciocho, firma el autor.

Firma:


Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

Cedula de identidad: 1105704165 **Correo electrónico:** tcc-22@hotmail.com

Teléfono: Dom. 076060697 **Celular:** 0981901488

Datos complementarios:

Directora de Tesis: Dra. María de los Ángeles Sánchez Tapia, Eps.

Tribunal de grado:

Presidente: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc

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

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

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, quien ha sido mi guía y protector. A mis padres queridos, Mónica Campoverde y Tayron Celly; a quiénes amo y considero mi ejemplo a seguir, ya que en mí depositaron su confianza, me apoyaron y me dieron fuerzas para seguir siempre adelante y no decaer, y que gracias a su sacrificio y a sus enseñanzas, he logrado llegar al final de mis estudios universitarios con éxito.

A mis hermanos/a Kevin y Mónica, por estar conmigo en todo momento y ser mi mayor fuente de inspiración, finalmente al nuevo integrante de la familia Niko, quien ha sido para nuestra familia una fuente de alegría y felicidad.

AGRADECIMIENTO

Principalmente agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
1. TÍTULO	1
2. RESUMEN	2
SUMMARY.....	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA	6
4.1 APARATO URINARIO.....	6
4.2 INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS.....	6
4.3 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A IVU.....	6
4.3.1 FACTORES BIOLÓGICOS, DE COMPORTAMIENTO O AMBIENTALES.....	6
4.3.2 ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS.....	7
4.4 AGENTES BACTERIANOS QUE CAUSAN IVU.....	7
4.4.1 INTRODUCCIÓN.....	7
4.4.2 ESTRUCTURA BACTERIANA.....	7
4.4.2.1 NUCLEOIDE.....	7
4.4.2.2 CITOPLASMA.....	7
4.4.2.3 MEMBRANA CITOPLASMÁTICA.....	7
4.4.2.4 PARED CELULAR.....	7

4.4.2.5 ESPACIO PERIPLASMÁTICO.....	8
4.4.2.6 CAPSULA.....	8
4.4.2.7 ESTRUCTURAS EXTERIORES.....	8
4.4.2.8 PLÁSMIDO.....	8
4.4.2.9 RIBOSOMAS.....	8
4.4.3 MORFOLOGÍA.....	8
4.4.3.1 COCOS.....	8
4.4.3.2 BACILOS.....	8
4.4.3.3 ESPIRILOS.....	8
4.4.4 CLASIFICACIÓN.....	8
4.5 UROPATÓGENOS.....	9
4.5.1 ENTEROBACTERIAS.....	9
4.5.1.1 ESCHERICHIA COLI.....	9
4.5.1.2 KLEBSIELLA SPP.	10
4.5.1.3 PROTEUS SPP.	10
4.5.2 BACILOS NO FERMENTADORES.....	10
4.5.2.1 PSEUDOMONA AERUGINOSA.....	10
4.6 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO.....	11
4.6.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE ORINA.....	11
4.6.1.1 MUESTRA DE ORINA DE CHORO MEDIO DE LA MICCIÓN.....	11
4.6.1.2 RECOLECCIÓN DE LA ORINA A PARTIR DEL CATÉTER.....	12
4.6.1.3 RECOLECCIÓN DE ORINA POR PUNCIÓN SUPRAPÚBICA.....	12
4.6.1.4 RECOLECCIÓN DE ORINA EN BOLSA ADHESIVA.....	12
4.6.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.....	12

4.6.3 MANEJO DE LA MUESTRA EN SU RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.....	13
4.6.4 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.....	13
4.6.5 MÉTODOS RÁPIDOS DE DIAGNÓSTICO INDIRECTO.....	13
4.6.5.1 MÉTODOS QUÍMICOS.....	13
4.6.5.2 MÉTODOS MICROSCÓPICOS.....	14
4.6.6 UROCULTIVO (CULTIVO CUANTITATIVO).....	15
4.6.6.1 MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS PARA UROCULTIVO.....	15
4.6.6.2 INOCULACIÓN DE LOS MEDIOS.....	15
4.6.6.3 CONDICIONES DE INCUBACIÓN PARA LOS UROCULTIVOS.....	15
4.6.6.4 LECTURA DE LOS UROCULTIVOS.....	16
4.7 IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA.....	16
4.7.1 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS (TINCIÓN DE GRAM).....	17
4.7.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS.....	18
4.7.2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA COLINA.....	18
4.7.2.2 HEMÓLISIS.....	18
4.7.3 PRUEBAS BIOQUÍMICAS.....	18
4.7.3.1 PRUEBAS BIOQUÍMICAS INMEDIATAS.....	19
4.7.3.2 PRUEBAS BIOQUÍMICAS RÁPIDAS.....	19
4.7.3.3 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DIFERIDAS.....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	24
5.2 ÁREA DE ESTUDIO.....	24
5.3 UNIVERSO.....	24

5.4 MUESTRA.....	24
5.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	24
5.6 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	24
5.7 EQUIPOS Y MATERIALES.....	25
5.7.1 FASE PREANALÍTICA.....	25
5.7.2 FASE ANALÍTICA.....	25
5.7.3 FASE POSTANALÍTICA.....	25
5.8 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	25
5.9 PRESENTACIÓN DE DATOS.....	26
5.10 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	26
5.11 CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	26
6. RESULTADOS.....	27
7. DISCUSIÓN.....	30
8. CONCLUSIONES.....	32
9. RECOMENDACIONES.....	33
10. BIBLIOGRAFÍA.....	34
11. ANEXOS.....	36
11.1 ANEXO 1: AUTORIZACIÓN DEL MACROPROYECTO.....	36
11.2 ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	37
11.3 ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	38
11.4 ANEXO 4: SIEMBRA DE UROCULTIVO.....	39
11.5 ANEXO 5: TABLA DE REQUISITOS DEL CULTIVO.....	42
11.6 ANEXO 6: TINCIÓN GRAM.....	44

11.7 ANEXO 7: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA POR EL EQUIPO AUTOMATIZADO.....	46
11.8 ANEXO 8: LECTURA DEL RESULTADO DEL EQUIPO.....	48
11.9 ANEXO 9: REGISTRO DE DATOS DE LABORATORIO.....	49
11.10 ANEXO 10: CERTIFICACIÓN DE TRADUCCIÓN DEL RESUMEN.....	50

1. Título:
Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja)

2. Resumen

La infección de vías urinarias (IVU) se define como la invasión del aparato urinario sano, por un grupo de microorganismos denominados uropatógenos. Principalmente afectan al sexo femenino, siendo 14 veces más frecuentes que en el masculino. Por estas razones se planteó como objetivo general: Determinar los agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja); y como objetivos específicos: Identificar las bacterias gramnegativas aisladas en los urocultivos y, Señalar la distribución de agentes causantes de infección de vías urinarias según edad de la usuaria y área de servicio de salud. El estudio se realizó durante el periodo Diciembre 2017- Abril 2018, tuvo un enfoque cuantitativo de tipo descriptivo, prospectivo y transversal. El universo estuvo constituido por 394 usuarias y, 164 cumplieron los criterios de inclusión siendo la muestra. La identificación bacteriana se efectuó mediante el equipo automatizado VITEK 2 Compact. Los principales agentes etiológicos aislados pertenecen al grupo de bacilos gramnegativos, los cuales fueron *Escherichia coli* (91%), *Klebsiella pneumoniae* (5%), *Proteus mirabilis* (3%) y *Pseudomona aeruginosa* (1%). Los grupos etarios más afectados fueron adultos (50.6%) y adultos mayores (26.6%), las áreas de dónde provino mayor número de aislamiento fueron emergencia (48.9%) y consulta externa (34.2%).

Palabras clave: Infección de vías urinarias, mujeres, uropatógenos, enterobacterias.

Summary

Urinary Tract Infection (acronym UTI) is defined as the healthy urinary tract invasion by microorganisms group called uropathogens. They principally affect the female sex, being 14 times more recurrent than in the male case sex. For whole these reasons, the general aim of the present research project was to: To determine the bacterial agents which cause Urinary Tract Infection in women attending the “Isidro Ayora” Hospital (Loja); and as specific objectives: To identify isolated gram-negative bacteria in urine cultures and, to indicate the distribution of agents causing urinary tract infection according to the worker's or user's age and health service area. The study was being made during the term December 2017- April 2018, and it had had a quantitative approach of a Descriptive, Prospective and Transversal sort. The universe or total consisted of 394 users, and 164 met the inclusion criteria being the sample. Bacterial identification was carried out using the VITEK 2 Compact automated equipment. The principal etiological agents isolated have its place to the group of gram-negative bacilli, which were *Escherichia coli* (91%), *Klebsiella pneumoniae* (5%), *Proteus mirabilis* (3%) and *Pseudomona aeruginosa* (1%). The most part directly of them affected age groups were adults (50.6%) and elderly adults (26.6%), the areas from which the greatest number of isolation came were the emergency (48.9%) and the external consultation (34.2%).

Key words: Urinary tract infection, women, uropathogens, enterobacteria.

3. Introducción

La infección de vías urinarias (IVU) es un término aplicable a muchos trastornos clínicos que van desde la presencia asintomática de bacterias en la orina, hasta una severa infección del riñón con una septicemia resultante. Las IVU son las infecciones nosocomiales más frecuentes después de las infecciones del aparato respiratorio. Se presentan con mayor frecuencia en el sexo femenino, se estima que hasta el 50% de las mujeres pueden desarrollar una IVU a lo largo de su vida (González. 2015; McAninch & Lue, 2014, pág. 197).

Se considera que en Estados Unidos, las IVU son responsables de más de 7 millones de consultas ambulatorias, un millón de visitas al departamento de emergencia y 100.000 hospitalizaciones cada año. Según datos de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene, las IVU son una de las infecciones adquiridas con mayor frecuencia en el ámbito hospitalario, llegando a alcanzar un 18.16% de todas las infecciones nosocomiales en dicha nación. Otros estudios señalan que la IVU nosocomial es la infección más frecuente adquirida en el medio hospitalario y representa hasta el 40% de todas las infecciones nosocomiales. En Ecuador, según datos del INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) del año 2015, las IVU son un problema de salud que se ubican en el sexto puesto dentro de las 10 principales causas de morbilidad femenina (Balasina, Reina, & Lerena, 2015, pág. 213; INEC, 2015; Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene, 2016; Tille, 2014, págs. 919-920).

Los agentes bacterianos causantes de IVU son en su mayoría bacilos gramnegativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Entre los agentes bacterianos responsables de infecciones adquiridas en la comunidad encontramos que, *Escherichia coli*, es por lejos el agente bacteriano que con mayor frecuencia se aísla, también se suelen identificar especies de *Klebsiella spp*, *Staphylococcus saprophyticus* y Enterococos. En las infecciones adquiridas en el ambiente hospitalario, los pacientes tienen mayor probabilidades de ser infectados por *Escherichia coli*, especies de *Klebsiella spp* y *Proteus spp*, Estafilococos, *Pseudomona aeruginosa* y otros bacilos no fermentadores (Carroll, Mietzner, Miller, & Morse, 2016, págs. 231-232; Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, pág. 253; Tille, 2014, pág. 920).

La importancia del estudio de este tipo de infecciones reside en el enorme impacto que tienen en la población, ya que son cada vez más recurrentes no solo en ámbito ambulatorio sino también en el nosocomial. El estudio de los agentes etiológicos causantes de estas infecciones, así como el de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de los mismos, son indispensables para controlar el desarrollo de estas patologías. Cabe recalcar que las IVU representan un grave problema de salud a nivel mundial, ya que la incidencia de las mismas esta aumentado y junto con ellas la aparición de microorganismos resistentes a los antimicrobianos, los cuales hacen que sea más difícil el tratar a las personas que padecen de estas infecciones.

Por todas estas razones este estudio se desarrolla dentro un Macroproyecto de Investigación denominado “Caracterización molecular de Betalactamasas aisladas en muestras de orina procedentes de los Hospitales Isidro Ayora y SOLCA de Loja”; cuyo primer objetivo específico señala: “Identificar la cepa bacteriana aislada en los urocultivos”, siendo este el punto de partida para el desarrollo de todo el estudio realizado.

Por lo tanto el propósito de la investigación fue determinar ¿Cuáles son los agentes bacterianos causantes de IVU en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja)?, para dar respuesta a esta pregunta se planteó como objetivo general: “Determinar los agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja)” y como específicos: “Identificar las bacterias gramnegativas aisladas en los urocultivos” y “Señalar la distribución de agentes causantes de infección de vías urinarias según edad de la usuaria y área de servicio de salud”.

La información obtenida sobre la etiología bacteriana de estas infecciones será empleada para brindar un mejor y rápido tratamiento de las mismas. Además, los datos que generen podrán ser usados por los servicios de laboratorio como sustento para la identificación de los agentes bacterianos causantes de la infecciones de vías urinarias, ya que al contar con datos epidemiológicos propios de nuestra localidad se tendrá un antecedente de cuáles serán los posibles agentes bacterianos relacionados con estas infecciones.

4. Revisión de literatura

4.1 Aparato urinario

El aparato urinario humano está formado por dos riñones, dos uréteres, la vejiga urinaria y la uretra. Los riñones producen la orina la cual es transportada por los uréteres hasta la vejiga. Ésta última tiene la función de reservorio de la orina, la cual se vacía a intervalos a través de la uretra. La orina se origina por un ultrafiltrado del plasma, la reabsorción de agua y sustancias filtradas esenciales para la función corporal convierten aproximadamente 170 000 mL de plasma filtrado en un volumen de orina diario promedio de 1200 mL (Brüel, Christensen, Tranum-Jensen, Qvortrup, & Geneser, 2015, págs. 555-556, Strasinger & Schaub Di Lorenzo, 2016, pág. 29).

4.2 Infección de vías urinarias

Según Pigrau (2013), la infección de vías urinarias se define como la presencia y multiplicación de microorganismos en las mismas, con invasión de los tejidos y generalmente cursa con la presencia de un gran número de bacterias en orina (bacteriuria). Sin embargo, pueden encontrarse bacterias en orina sin que exista infección, por contaminación de la muestra con bacterias de la flora de la uretra distal, de los genitales externos, o por un tiempo de conservación excesivo antes del procesamiento. Por estas razones la sola presencia de bacterias en orina, no puede considerarse como criterio diagnóstico de IVU. En la mayoría de las IVU aparecen leucocitos en orina (leucocituria o piuria) como respuesta inflamatoria a la invasión tisular por bacterias. La presencia de leucocitos en orina sí se considera un indicador fiable de IVU y su determinación ayuda a establecer el diagnóstico (Pigrau, 2013, pág. 23).

4.3 Factores de riesgo asociados a IVU

Pigrau (2013), señala que una proporción importante de IVU ocurre en personas sin anormalidades de su tracto urinario, estas son las denominadas infecciones no complicadas, en contraste con las infecciones complicadas que implican alteraciones anatómicas o funcionales del tracto urinario, o presencia de cuerpos extraños, constituyéndose en factores predisponentes para este tipo de infección. (Pigrau, 2013, pág. 24).

4.3.1 Factores biológicos, de comportamiento o ambientales. Entre estos tenemos: coito, nueva pareja sexual en el año previo, uso de espermicidas, antibioticoterapia previa, IVU previas, antecedentes de IVU en la infancia e historia de IVU en mujeres familiares en primer grado, pérdida de estrógenos, incontinencia, cistocele, residuo postmiccional y estado mental alterado.

4.3.2 Alteraciones inmunológicas. Aquí encontramos las deficiencias inmunológicas y la diabetes (Pigrau, 2013, págs. 24-25).

4.4 Agentes bacterianos que causan IVU

4.4.1 Introducción. Las bacterias son células procariotas las cuales se hallan siempre en forma unicelular, su tamaño promedio es de 0,5µm a 5µm. Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y pueden emplear varias rutas metabólicas para obtener energía, empleando desde carbohidratos hasta proteínas o desde nitratos o hierro hasta energía solar. El pequeño tamaño y la naturaleza casi incolora de las bacterias demandan el uso de tinciones para su visualización con un microscopio óptico. Las principales formas que adoptan estos microorganismos son: cocoideas (esféricas), bacilares (bastones) y espirilos (espirales) (Ryan, y otros, 2014, págs. 353-354).

4.4.2 Estructura bacteriana. Según Mérida & Moreno (2015), las bacterias se encuentran estructuradas por:

4.4.2.1 Nucleoide. Es una estructura nuclear elemental que contiene una gran molécula circular de ácido desoxirribonucleico (DNA), pero no está rodeada por una membrana.

4.4.2.2 Citoplasma. Carece de orgánulos delimitados por membranas y no posee formaciones protoplasmáticas propias de las células eucariotas. Es la parte de la célula que rodea el núcleo y que está limitada por la membrana exterior, tiene una apariencia viscosa.

4.4.2.3 Membrana citoplasmática. Formada por una bicapa lipídica, que interviene en dos funciones principales: actúa como barrera de permeabilidad selectiva y conforma el soporte para los distintos sistemas enzimáticos.

4.4.2.4 Pared celular. Es el estrato rígido que confiere la forma a la bacteria. Se considera el esqueleto de la célula y está compuesta principalmente por peptidoglucanos (muerína). Las bacterias grampositivas poseen una gruesa pared celular formada por

varias capas interconectadas de peptidoglucanos, que constituye del 80 a 90% de la estructura total. Por el contrario, las bacterias gramnegativas poseen una fina capa de peptidoglucanos que constituye un 20% de la pared celular y que se encuentra rodeada por una segunda membrana lipídica exterior que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas.

4.4.2.5 Espacio periplasmático. Solo se encuentra en las bacterias gramnegativas, está situado entre la membrana citoplasmática y la membrana externa.

4.4.2.6 Capsula. Estructura que se forma por acumulación de sustancias de excreción del metabolismo de la bacteria y por la interacción con el huésped. Está constituida por polisacáridos y polipéptidos, protege y participa en la adhesión de la célula.

4.4.2.7 Estructuras exteriores. Entre estas destacan los flagelos y pilis, que cumplen funciones de movimiento y adherencia.

4.4.2.8 Plásmido. Constituye el material genético extracromosómico, está constituido por secuencias cortas de DNA circular bicatenario, que pueden existir y replicarse independientemente del DNA cromosómico y son heredados por las células hijas (Mérida & Moreno, 2015, págs. 861-862).

4.4.2.9 Ribosomas. Consta de dos subunidades 30S y 50S que forman un ribosoma 70S, su principal función es la de sintetizar proteínas. Están formados por proteínas y ácido ribonucleico ribosómico (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, pág. 107; Pierce, 2016, pág. 424).

4.4.3 Morfología. Vargas & Kuno (2014), señalan que la rigidez de la pared celular determina la forma de las bacterias. Las formas bacterianas más comunes son:

4.4.3.1 Cocos. Son bacterias esféricas u ovaladas, con un diámetro de aproximadamente $0.5\mu\text{m}$ a $2\mu\text{m}$. Pueden presentar y tomar diversas formas, esto debido a la tendencia de las células a mantenerse unidas, una vez sucedida la división y por el o los planos en los que se produzca división celular.

4.4.3.2 Bacilos. Son bacterias en forma de bastón, miden por lo general de $0.2\mu\text{m}$ a $2\mu\text{m}$ de ancho y $1\mu\text{m}$ a $10\mu\text{m}$ de diámetro. Pueden ser largos y delgados, pequeños y gruesos, también pueden presentar variaciones en sus extremos pudiendo ser rectos, afilados o redondeados.

4.4.3.3 Espirilos. Son bacterias con forma helicoidal o espiral, presentan una o más curvaturas (Vargas & Kuno, 2014, págs. 2595-2596).

4.4.4 Clasificación. Para la clasificación de las bacterias se pueden utilizar varios criterios como como lo son: el crecimiento en medios de cultivo, pruebas bioquímicas, pruebas inmunológicas, etc. Pero uno de los criterios más empleados para la clasificación de las bacterias desde el punto de vista histórico es la tinción de Gram. Esta tinción por lo general constituye el primer paso para dividir en términos generales a las bacterias con base en una serie de diferencias fundamentales en la estructura de sus paredes celulares. Las bacterias grampositivas poseen una pared celular semejante una red constituida de peptidoglucano, la cual al teñirse tomará el color azul, mientras que las bacterias gramnegativas que poseen una capa más delgada adquirirán una coloración rojiza (Carroll, Mietzner, Miller & Morse, 2016, pág. 23).

4.5 Uropatógenos

Se denomina uropatógenos a los microorganismos que son responsables de producir infección de vías urinarias. La mayoría de estas infecciones son producidas por bacilos gramnegativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, entre los que podemos citar a *Escherichia coli* (uropatógeno más frecuente), especies de *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Pseudomonas spp*, *Serratia spp*; y en menor proporción son producidas por cocos grampositivos como Estafilococos coagulasa negativo, Estreptococos y Enterococos (Sola, Rodríguez, & Monteagudo, 2017).

4.5.1 Enterobacterias. Son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos gramnegativos, cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales. La familia comprende muchos géneros. Algunos microorganismos entéricos, por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la microbiota normal y en forma incidental producen enfermedad, en tanto que otros especies como *Salmonella* y *Shigella*, son siempre patógenas para el ser humano. Las enterobacterias son aerobios o anaerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas y otros factores de virulencia (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, págs. 253-254).

4.5.1.1 Escherichia coli. Es el miembro más frecuente e importante del género *Escherichia*. Es un bacilo gramnegativo productor de catalasa. Este microorganismo está asociado a múltiples enfermedades las que incluyen gastroenteritis e infecciones

extraintestinales (infección de vías urinarias, meningitis y sepsis). *Escherichia coli* forma parte de la microbiota normal del intestino, aunque se puede comportar como patógeno oportunista cuando los intestinos se perforan y las bacterias ascienden a la cavidad peritoneal (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, págs. 254-255).

4.5.1.2 *Klebsiella spp.* Las bacterias pertenecientes a este género poseen una capsula de polisacáridos de gran tamaño, la cual confiere el aspecto mucoso de las colonias aisladas, así como, una mayor virulencia de los microorganismos *in vitro*. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza, es huésped habitual saprófito del hombre y de los animales. *K. pneumoniae* forma parte de la microbiota normal del intestino humano y de la cavidad oral. Las especies que con mayor frecuencia se aíslan en el laboratorio son *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, estos microorganismos pueden producir neumonía lobular, infección de vías urinarias e infección de heridas y tejidos blandos (Carroll, Mietzner, Miller & Morse, 2016, pág. 233; Lopardo, Predari, & Vay, 2016, págs. 112-113; Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, pág. 262).

4.5.1.3 *Proteus spp.* El nombre *Proteus* hace referencia a la capacidad de estos microorganismos de cambiar de forma. Generalmente se presentan como bacilos de 0,4µm a 0,6µm de ancho por 1µm a 3µm de largo, pero también pueden observarse como cocobacilos aislados o en cadenas y las formas jóvenes pueden ser filamentosas. Son microorganismos muy móviles, lo cual genera el efecto *swarming* característico en los medios de cultivo cuando son sembrados. *Proteus mirabilis*, el miembro más frecuentemente aislado del género, produce grandes cantidades de ureasa, que escinde la urea en dióxido de carbono y amonio, este proceso eleva el pH urinario, lo que precipita el magnesio y el calcio en forma de cristales de estruvita y apatita respectivamente, lo que da lugar a la formación de cálculos renales. El aumento de la alcalinidad de la orina también resulta tóxico para el urotelio (Lopardo, Predari, & Vay, 2016, págs. 250-521; (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, págs. 262-263).

4.5.2 Bacilos no fermentadores.

4.5.2.1 *Pseudomonas spp.* Son bacilos gramnegativos móviles, aerobios, sin capacidad de fermentación, algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles, tienen una amplia distribución en el suelo, agua, plantas y animales. Además se pueden encontrar en medios húmedos en los hospitales. Este género incluye más de 200 especies, *Pseudomonas aeruginosa* a menudo está presente en pequeñas cantidades en

la microbiota intestinal normal y en la piel del ser humano, y es la principal especie patógena del grupo. Tiene acción patógena cuando se introduce en zonas sin defensas normales, como el caso de las mucosas y la piel afectadas por daño hístico directo como en quemaduras, cuando se introducen catéteres o sondas por vía intravenosa o vesical, o cuando existe neutropenia, como en la quimioterapia oncológica. Este microorganismo puede causar neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias, así como una alta morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística, debido a las infecciones crónicas que eventualmente conducen a un daño a nivel pulmonar e insuficiencia respiratoria (Carroll, Mietzner, Miller & Morse, 2016, págs. 245-246; Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2017, pág. 273).

4.6 Diagnóstico microbiológico

4.6.1 Recolección de la muestra de orina. Generalmente la muestra idónea para analizar es la primera orina de la mañana, ya que esta tiene una mayor osmolaridad, es más concentrado en elementos químicos y formes, y está sometida en menor medida a desviaciones de la dieta, postura y ejercicio físico. Si no es posible obtener la primera orina de la mañana, se puede aceptar muestras que al menos tengan 4 horas de retención urinaria. Las muestras se deben recoger en recipientes limpios, secos, herméticos y de boca ancha (Mérida & Moreno, 2015, pág. 121; Strasinger & Schaub Di Lorenzo, 2016, págs. 30-31).

4.6.1.1 Muestra de orina del chorro medio de la micción. Según Procop y otros (2017), para la recolección de esta muestra se deben guardar condiciones adecuadas de higiene. En las mujeres, esta técnica requiere indicaciones precisas del personal para lograr mejores resultados. Primero se limpia el área periuretral y el perineo con dos o tres paños de gasa embebidos en agua jabonosa, utilizando un movimiento de adelante hacia atrás, seguido de un enjuague con solución salina o agua estéril. Los labios vaginales deben mantenerse separados durante la micción espontánea y se debe descartar los primeros mililitros de orina para eliminar las bacterias de la uretra. El chorro medio de la orina se recolecta entonces en un recipiente estéril de boca ancha que pueda cerrarse con una tapa ajustada.

La limpieza con agua jabonosa no suele requerirse para los hombres, en su lugar se limpia el meato urinario inmediatamente antes de la micción espontánea, con lo cual la recolección de la muestra del chorro medio de orina es suficiente. El cumplimiento del

procedimiento de recolección de orina puede controlarse a lo largo del tiempo, teniendo en cuenta la frecuencia con la cual el recuento de colonias de las muestras se encuentra en un rango entre 10.000 y 100.000 UFC/mL. La mayoría de los pacientes tendrán un recuento de colonias que se encuentran fuera del rango. Los pacientes sin infección no tendrán bacterias o bien el recuento será inferior a 10^2 UFC/mL. Los pacientes infectados tendrán un recuento de 100.000 UFC/mL o más. Las muestras deben procesarse dentro de las dos horas posteriores a la recolección para obtener un recuento de colonias confiable (Procop, y otros, 2017, págs. 81-82).

4.6.1.2 Recolección de orina a partir del catéter. Debe evitarse en la medida de lo posible la colocación de un catéter con el único propósito de obtener una muestra de orina debido al riesgo de introducir patógenos bacterianos. La colocación de un catéter se debe restringir a los pacientes que son incapaces de emitir una muestra de chorro medio adecuada y debe realizarse con las normas asépticas correspondientes. Los primeros mililitros de orina del catéter deben descartarse para eliminar cualquier microorganismo que pueda haberse alojado en el catéter en su tránsito a través de la uretra (Procop, y otros, 2017, pág. 82).

4.6.1.3 Recolección de orina por punción suprapúbica. La punción suprapúbica se reservan casi en forma exclusiva para los recién nacidos y los niños pequeños. Para llevar a cabo esta práctica, se desinfecta la piel suprapúbica que se encuentra sobre la vejiga y se colocan en el lugar campos quirúrgicos estériles. Se inyecta en forma subcutánea un anestésico en el sitio donde se hará la punción, se realiza una pequeña incisión en la epidermis con un bisturí. A través de esta herida se introducen cuidadosamente dentro de la vejiga una aguja para punción espinal de bisel corto y calibre 18, y se aspiran 10 mL de orina con una jeringa (Procop, y otros, 2017, pág. 83).

4.6.1.4 Recolección de la orina en bolsa adhesiva. Este tipo de recolección se hace en pacientes pediátricos o recién nacidos. Se emplean bolsas plásticas colectoras con adhesivos hipoalergénicos, estas bolsas se colocan en la zona genital, previo lavado de la zona púbica y perianal con agua y jabón, y se cambian cada 20 minutos para evitar la contaminación de la muestra (Mérida & Moreno, 2015, pág. 880).

4.6.2 Transporte y conservación de la muestra. Después de su recolección las muestras de orina deben entregarse al laboratorio rápidamente y deben evaluarse dentro de las 2 primeras horas. Una muestra que no pueda ser enviada y evaluada dentro de las

dos horas posteriores a su recolección debe refrigerarse a una temperatura de 2 a 8 °C, o en su defecto añadir un conservante químico a la muestra. Cuando la orina proviene de centros periférico y esta se va a cultivar, se debe refrigerar durante todo el trayecto hasta el laboratorio y se debe mantener así hasta el momento en que sea cultivada. Para las pruebas químicas con tirillas, se debe dejar que la orina retome la temperatura ambiente (Strasinger & Schaub Di Lorenzo, 2016, págs. 31-32).

4.6.3 Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología.

Una vez que la muestra de orina llega al laboratorio se debe verificar que esta cumpla con una serie de requisitos básicos como: un rotulado correcto, que las condiciones de recolección, transporte y conservación sean adecuadas, y de ser el caso de muestras que procedan de centros periféricos, que este con toda la documentación necesaria. En caso de no cumplir estas especificaciones deberá registrarse cualquier incidencia o cualquier información que pueda afectar la interpretación de los resultados obtenidos (Mérida & Moreno, 2015, págs. 879-880).

4.6.4 Procesamiento de la muestra. Cuando se trata de estudios microbiológicos es probable que hasta el 60-80% de todas las orinas que el laboratorio de un centro médico recibe para cultivo no contengan agentes etiológicos de infecciones o en caso de que los contengan solo sean contaminantes. El procesamiento adecuado de las muestras de orina permite identificar con rapidez aquellas que serán negativas en el cultivo y de esta manera evitar el uso excesivo de medios de cultivo, la pérdida de tiempo por el personal del laboratorio y la incubación durante la noche. La detección sistemática de bacteriuria o piuria proporciona información importante al médico tratante el mismo día de recolección de la muestra, en tanto que si se esperara los resultados del cultivo podría tardar uno o más días para obtener la misma información (Tille, 2014, págs. 924-925).

4.6.5 Métodos rápidos de diagnóstico indirecto. Según Pigrau (2013), los métodos rápidos de diagnóstico (químico y microscópico), nos permiten hacer un tamizaje a las muestras destinadas para urocultivo, verificando si estas en realidad ameritan realizar esta prueba.

4.6.5.1 Métodos químicos. Pigrau (2013), indica que estos métodos permiten la detección de bacteriuria y/o piuria. Se basan en reacciones químicas que el microorganismo produce frente a sustratos propios de la orina, o bien frente a sustratos específicos adicionados que cambian de color por acción de enzimas que poseen las

bacterias presentes en la orina. Las pruebas enzimáticas más frecuentemente utilizadas para detección de bacteriuria o piuria son:

Reducción de nitratos. Las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* producen una enzima denominada *nitrato reductasa*, que transforma los nitratos en nitritos. La reacción en medio ácido proporciona un compuesto de color rojo, este cambio se interpreta como una prueba positiva. La presencia de nitritos es altamente específica de bacteriuria (95- 98%) con un valor predictivo positivo del 94%, pero su sensibilidad es baja (<80%). Además, la prueba requiere la primera orina de la mañana, ya que al menos son necesarias cuatro horas de permanencia de la orina en la vejiga para obtener niveles detectables. Aunque, un resultado negativo no permite excluir la infección, en general, un resultado positivo permite realizar un diagnóstico rápido y fiable de IVU (Pigrau, 2013, pág. 14).

Esterasa leucocitaria. Esta prueba detecta leucocituria o piuria de manera indirecta. En este caso, la tira reactiva está impregnada con un éster del ácido indoxil carboxílico, que la *esterasa* transforma en indoxilo, y produce un color azul-violeta. Tiene la capacidad de detectar leucocitos intactos y lisados (Pigrau, 2013, págs. 14-15).

4.6.5.2 Métodos microscópicos. Aunque el diagnóstico de IVU se establece demostrando por cultivo la existencia de bacteriuria significativa, la existencia de leucocituria o piuria es un buen indicador de esta infección. El examen microscópico permite, además, la observación de cilindros leucocitarios sugerentes de afectación renal y de células escamosas vaginales, que indican contaminación de la muestra e invalidan los resultados del cultivo. La cuantificación de leucocitos en orina se realiza generalmente mediante recuento en cámara cuentaglóbulos (cámara de Neubauer), determinando leucocitos/mm³ (L/mm³), o tras centrifugación, determinando leucocitos/campo (L/c) en el sedimento urinario. Como límite normal se establece la presencia de 10 L/mm³ que groseramente se corresponde con 5 L/c en el sedimento urinario. Aunque la existencia de piuria es un buen indicador de IVU, su presencia debe valorarse siempre en relación a la situación clínica del paciente y a otros hallazgos de laboratorio (Pigrau, 2013, págs. 14-15).

El examen microscópico de preparaciones de orina teñidas mediante tinción de Gram, para observar la presencia de bacterias en la muestra, es un método simple, rápido, barato y fiable para identificar muestras de orina con recuentos bacterianos

iguales o superiores a 10^5 UFC/mL. En el examen, mediante tinción de Gram, de una gota (0,01 mL) de orina sin centrifugar con objetivo de inmersión de 100 aumentos, la visión de al menos un microorganismo por campo señala una concentración de bacterias en la orina mayor o igual a 10^5 UFC/mL, con una sensibilidad próxima al 90% (Pigrau, 2013, pág. 15).

Sin embargo, las muestras con bajos recuentos en el cultivo (inferiores a 10^5 UFC/mL) no son detectadas con este método. El examen individual de cada muestra por esta técnica lleva demasiado tiempo y resulta impracticable como método de rutina, sin embargo, debe estar disponible para casos seleccionados que requieran un examen rápido de orina. Así, la tinción de Gram puede ser muy útil para establecer tratamiento empírico en sepsis de origen urinario (Pigrau, 2013, págs. 15-16).

4.6.6 Urocultivo (cultivo cuantitativo). El cultivo de orina se realiza para cuantificar el número de bacterias por mililitro y se expresa como unidades formadoras de colonias/mL (UFC/mL). La técnica de cultivo cuantitativo más utilizada es la siembra con asa calibrada, que permite depositar sobre la superficie del medio de cultivo un volumen determinado de orina. En general, se suelen emplear asas de 0,001 mL o 0,01 mL, de forma que se puede cuantificar bacteriuria (Mérida & Moreno, 2015, pág. 881).

4.6.6.1 Medios de cultivo empleados para urocultivo. Se requieren medios selectivos y no selectivos, casi siempre es suficiente una combinación de agar sangre de carnero al 5% y agar MacConkey para el aislamiento de microorganismos tanto grampositivos como gramnegativos. También es común el empleo de agar eosina-azul de metileno (EMB) (Procop, y otros, 2017, págs. 84-85).

También se puede usar como único medio de cultivo el agar CLED (Cistina-Lactosa deficiente en electrolitos), un medio diferencial no selectivo, que permite el crecimiento de bacterias grampositivas, gramnegativas y levaduras. Cabe resaltar que este medio inhibe el fenómeno de swarming producido por *Proteus spp* (Pigrau, 2013, págs. 13-14).

4.6.6.2 Inoculación de los medios. Para obtener un recuento semicuantitativo la orina debe ser previamente homogeneizada (moviéndola con suavidad para evitar la formación de espuma). Se emplean asas de plástico o asas de platino calibradas para contener 0,01 o 0,001 mL de orina. Para la obtención del volumen adecuado es

importante introducir el asa inmediatamente por debajo de la superficie líquida y ascenderla verticalmente. Con el asa cargada se toca el centro de la placa, a partir de la cual el inóculo se distribuye en línea a través de todo su diámetro, sin flamear ni tocar la orina de nuevo, el asa se usa para sembrar en estría toda la placa; se cruza muchas veces la estría del primer inóculo para producir colonias aisladas (Mérida y Moreno, 2015, pág. 881; Tille, 2014, págs. 926-927).

4.6.6.3 Condiciones de incubación para los urocultivos. Los cultivos de orina deben ser incubados a 35-37 °C en atmósfera aeróbica antes de ser interpretados. En la mayoría de los casos la incubación debe durar 18-24 horas para detectar patógenos urinarios, por ende algunas muestras sembradas al final del día no pueden leerse con precisión a la mañana siguiente. Estos cultivos deben incubarse de nuevo hasta el otro día o interpretarse al final del este, cuando se cumplan las 24 horas de incubación (Mérida y Moreno, 2015, pág. 881; Tille, 2014, págs. 926-927).

4.6.6.4 Lectura de los cultivos. Según Mérida & Moreno (2015), las placas deben ser examinadas para su valoración después del tiempo adecuado de incubación, el cual es de 18-24 horas. La lectura de los cultivos se realizara de la siguiente manera:

Cultivos sin crecimiento. Si las placas no presentaran crecimiento después del tiempo adecuado de incubación, el cultivo debe considerarse como negativo. Se prolonga la incubación otras 24-48 horas en los casos de las orinas que se obtuvieron por punción suprapúbica, cuando se especifica en la solicitud cultivo de levaduras o en pacientes inmunocomprometidos.

Cultivos con crecimiento. Se distinguen las especies con capacidad uropatógena, enterobacterias, *P. aeruginosa*, otros bacilos gramnegativos, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* β -hemolíticos, levaduras, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, etc. Se deben valorar los posibles morfotipos que se encuentran y realizar el recuento de colonias para cada una de las posibles especies, para ello, debe multiplicarse el número de colonias por el factor de dilución que se emplea.

Recuento de colonias. Se verifica la equivalencia en las siguientes unidades: 0.001mL, 1 colonia = 10^3 UFC/mL (10^6 UFC/L) y 0.01mL, 1 colonia = 10^2 UFC/mL (10^5 UFC/L) (Mérida y Moreno, 2015, pág. 881).

4.7 Identificación fenotípica

Mérida & Moreno (2015), señalan que la identificación convencional estudia las características fenotípicas que abarcan aspectos morfológicos, fisiológicos, químicos y bioquímicos. Algunas consideraciones generales que se han de tener en cuenta son las siguientes:

- Las características de la colonia (color, forma, tamaño, olor, etc.) y de las células que se visualizan por medio de tinciones, como la tinción de Gram y otras que, a su vez, ponen de manifiesto la forma, la existencia de esporas o flagelos y presencia de gránulos.
- La primera aproximación que se hace con las pruebas primarias como la observación de la morfología en la tinción de Gram, el crecimiento en diferentes atmosferas de incubación, el crecimiento en varios tipos de medios de cultivo y pruebas como la oxidasa y catalasa. Con estos datos se logra una primera aproximación a los distintos grupos de microorganismos. El siguiente paso apoyado en la experiencia y los datos clínicos, es la clasificación del género que se suele conseguir con las pruebas primarias (en el caso de microorganismos grampositivos).
- La identificación de la especie suele requerir una batería de pruebas fisiológicas y bioquímicas más amplia. Entre las propiedades se incluye el crecimiento a distintas temperaturas, la tolerancia a sal y a distintos pH, la sensibilidad a diversos antibióticos, la presencia de actividad enzimática o la capacidad de utilización de distintos sustratos como aminoácidos, azúcares o lípidos.
- Todos los datos fenotípicos han de ser interpretados como orientativos y deben utilizarse con otras pruebas para obtener la identificación definitiva.

4.7.1 Características microscópicas (Tinción de Gram). Es la tinción más utilizada para el examen microscópico de las bacterias. Separa las bacterias en dos grandes grupos, las que captan el colorante básico, cristal violeta (grampositivas) y las que pierden ese colorante con el decolorante alcohol o acetona (gramnegativas). Además de clasificar las bacteria en grampositivas y negativas, esta tinción también permite describir la morfología de las células bacterianas, es decir, si son formas cocoideas o bacilares (Tille, 2014, págs. 71-73).

Si bien los pasos para realizar la tinción de Gram se encuentran estandarizados, los tiempos de reposo de los reactivos empleados varía entre laboratorios. En la siguiente descripción Mérida & Moreno (2015), señalan los pasos para la realización de esta tinción:

- Colocar la muestra en un portaobjetos de cristal con una gota de agua o suero salino.
- Fijación por calor (se pasa el portaobjetos dos o tres veces por la base de la llama de un mechero o se utiliza una placa calefactora y se espera a que se enfrié).
- Adición del colorante cristal violeta o violeta de genciana. Se espera aproximadamente 30 segundos y se lava la con agua.
- Tratamiento con lugol, que actúa como mordiente para formar un complejo estable con el cristal violeta. Se espera aproximadamente 30 segundos y se lava con agua.
- Decoloración con alcohol o alcohol acetona al 30%. Se retira en cuanto se observa que ya no se elimina colorante. Las bacterias grampositivas retienen el complejo azul formado, debido a que su pared celular es rica en ácido teicoico y pobre en lípidos, lo que impide que actúe el decolorante al contrario de las gramnegativas, de pared rica en lípidos que favorece la decoloración.
- Lavado con agua.
- Tratamiento con safranina, que actúa como colorante de contraste. Se elimina con agua y se procede al secado.

4.7.2 Características macroscópicas. Mérida & Moreno (2015), indican que además de las características microscópicas, para la identificación fenotípica se pueden emplear otros rasgos físicos como las características macroscópicas (morfología de colonia y propiedad de hemólisis), características de cultivo y las características metabólicas (pruebas bioquímicas).

4.7.2.1 Características morfológicas de la colonia. Se observa el tamaño, la forma y la elevación o el grosor sobre el medio; también se pueden observar en algunos casos la producción de pigmento específico, por ejemplo el pigmento verde típico *Pseudomonas aeruginosa*, pigmento negro en ciertos anaerobios, etcétera (Mérida & Moreno, 2015, pág. 927).

4.7.2.2 Hemólisis. La producción de hemólisis del medio es típica de algunas colonias, puede ser completa (betahemólisis, se observa como un halo transparente) o incompleta (de color verdoso, denominada alfa hemólisis) (Mérida & Moreno, 2015, pág. 927).

4.7.3 Pruebas bioquímicas. Mérida & Moreno (2015), señalan que las pruebas bioquímicas ponen en manifiesto las características metabólicas de las bacterias. Estas pueden ser de varios tipos: las que demuestran la presencia de una enzima o las que evalúan la capacidad de crecer en la presencia de ciertos factores metabólicos o metabolizar algunos sustratos que hay en el medio de cultivo. Para algunas de estas pruebas se emplean técnicas rápidas, que permiten la observación en cuestión de pocos minutos o pocas horas, mientras que las que requieren un medio de cultivo se obtiene aproximadamente en 18-48 horas. Se pueden clasificar en tres grupos: pruebas inmediatas, pruebas rápidas (lectura en menos de 6 horas) y pruebas diferidas (lectura en 18-48 horas).

4.7.3.1 Pruebas bioquímicas inmediatas. Pruebas cuyos resultados se puede obtener en minutos (Mérida & Moreno, 2015, págs. 928).

Catalasa. La catalasa convierte en peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, este último se puede observar en forma de burbujas. Con esta prueba se separan los cocos grampositivos *Staphylococcus spp* y *Micococcaceae spp* (catalasa positiva) de *Streptococcus spp* y *Enterococcus spp* (catalasa negativa).

Oxidasa. Esta prueba detecta la presencia de oxidasa, enzima que activa la oxidación del citocromo, el cual reduce el oxígeno molecular y produce agua o peróxido de hidrógeno, según la especie.

4.7.3.2 Pruebas bioquímicas rápidas. Pruebas cuyos resultados se puede obtener en menos de 6 horas (Mérida & Moreno, 2015, págs. 928-929).

Hidrólisis de hipurato. Detecta la presencia de la enzima *hipuricasa*, la cual es capaz de degradar el hipurato de sodio. Esta reacción se detecta al añadir ninhidrina. La prueba se utiliza para la identificación de *Campylobacter jejuni* y *Streptococcus agalactiae*.

Ortonitrofenil-β-D-galactopiranósido (ONPG). La enzima *β-galactosidasa* hidroliza la lactosa para formar galactosa y glucosa en las bacterias. Se comporta utilizando como

sustrato el ONPG, que con la acción de la enzima se descompone y adquiere un color amarillo. Diferencia la enterobacterias que fermentan la lactosa de la que son incapaces de hacerlo.

Pirrolidonil peptidasa (PYR). Detecta la cantidad de pirrolidonil peptidasa que actúa sobre el sustrato L-pirrolidonil- β -naftilamida. Es útil para identificación de *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus spp.*

4.7.3.3 Pruebas bioquímicas diferidas. Mérida & Moreno (2015), señalan que las pruebas diferidas, en general, investigan mediante reacciones la identidad de los microorganismos con pruebas de oxidación-fermentación. Estas indagan si la deglución de los hidratos de carbono por parte de un microorganismo se realiza por vía oxidativa en presencia de oxígeno (proceso aerobio) o por vía fermentativa en ausencia de oxígeno (proceso anaerobio). Se lleva a cabo con la inoculación del microorganismo problema a un medio en el cual está el azúcar que se desea estudiar y un indicador de pH. El indicador vira de color cuando el microorganismo acidifica el medio con su metabolismo, las pruebas más habituales son:

Agar TSI (triple sugar iron – triple azúcar hierro). Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias en base a la fermentación de glucosa, lactosa o sacarosa, y a la producción de ácido sulfhídrico. La siembra es a partir de un cultivo puro, se inocula este medio picando el fondo y extendiendo sobre la superficie inclinada del medio. La incubación del medio es a 35-37°C durante 24 horas, en aerobiosis. Los resultados de la prueba se interpretan según el viraje de color de la misma, la acidificación del medio produce un viraje al color amarillo, y la alcalinización produce un color rojo. Los resultados que podemos observar son:

- Superficie ácida/fondo ácido (amarillo/amarillo): fermentación de glucosa, sacarosa y/o lactosa.
- Superficie alcalina/fondo ácido (rojo/amarillo): fermentación de glucosa solamente.
- Superficie alcalina/fondo alcalino (rojo/rojo): no fermentador de azúcares.
- Precipitado negro en el fondo: producción de H₂S.
- Burbujas o roturas: producción de gas (Laboratorios Britania S.A., 2015; Lopardo, Predari, & Vay, 2016).

Agar Urea. Es un medio utilizado para diferenciar microorganismos en base a la actividad ureásica. Se emplea para identificar bacterias que hidrolizan la urea, entre las cuales tenemos: estafilococos, especies de *Proteus spp.* y otras enterobacterias. Las bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono, estos productos alcalinizan el medio y lo viran al color rojo. La siembra se realiza a partir de un cultivo puro del microorganismo en estudio, se estría la superficie del medio en pico de flauta. La incubación se realiza en aerobiosis a 35-37°C, algunos microorganismos que hidrolizan la urea lentamente pueden requieren 72 horas de incubación. Los resultados se interpretan como:

- Positivo: viraje al color rosado-rojizo
- Negativo: color amarillo (Laboratorio Britania S.A., 2015).

Agar SIM (motilidad-indol- H₂S). Es un medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno por los microorganismos. Es útil para diferenciar miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidada por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas *triptofanasas*. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovac's o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de ácido sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato, siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2 (Laboratorios Britania S.A., 2015).

La siembra se realiza a partir de un cultivo de 18-24 horas en medio sólido, la siembra se realiza se realiza por punción profunda con aguja de inoculación recta. Se debe inocular el centro del tubo, y la punción debe abarcar 2/3 de profundidad del medio de cultivo desde la superficie. Es importante que la siembra se realice en línea recta. En cuanto a la incubación, esta debe ser durante 24 horas, a 35-37 °C, en aerobiosis. Luego de la incubación, agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovac's o de Erlich para verificar a producción de indol (producción de un anillo de color rojo sobre la superficie de agar). Los resultados posibles en el medio se interpretaran según la turbidez, ennegrecimiento y la formación de un anillo de color rojo posterior a la

adición de reactivo (de Kovac's o de Erlich) al medio. A continuación enunciaremos los resultados posibles según las características antes mencionadas:

- Movilidad. Resultado positivo: presencia de turbidez del medio o crecimiento más allá de la línea de siembra. Resultado negativo: el crecimiento solamente en la línea de siembra.
- Producción de H₂S. Resultado positivo: ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio. Resultado negativo: el medio permanece sin cambio de color.
- Prueba de Indol. Resultado positivo: color rojo luego de agregar el reactivo de Kovac's o de Erlich. Resultado negativo: el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento (Laboratorios Britania S.A., 2015).

Agar Citrato de Simmons. Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad. La siembra se realiza a partir de un cultivo puro de 18-24 horas. Se siembra en superficie un inóculo ligero, usando un asa sin arrastrar el agar. La incubación se realiza a 35-37 °C, durante 24-48 horas, en aerobiosis. Algunos microorganismos pueden requerir hasta 4 días de incubación. La interpretación de los resultados se da mediante el viraje de color en el medio y se interpretaran de la siguiente manera:

- Positivo: crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta.
- Negativo: ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo (Laboratorios Britania S.A., 2015).

Agar Lisina hierro. Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, basado en la decarboxilación/desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico. Por decarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta. La decarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada. Los microorganismos que no producen lisina decarboxilasa, pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al amarillo, pero a las 24 horas de incubación se observa

el pico de color violeta debido al consumo de las peptonas y el fondo amarillo. La producción de sulfuro de hidrógeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro.

El medio preparado tiene un color violeta. Con un asa recta se siembra el medio, se punza dos veces en el centro del agar hasta el fondo del tubo y después se siembra por estrías sobre la superficie del agar inclinado. Se incuba a 35 °C en atmosfera aeróbica durante 18 a 24 horas. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

- Decarboxilación de la lisina. Resultado positivo: superficie alcalina/profundidad alcalina (Pico violeta/fondo violeta). Resultado negativo: superficie alcalina/profundidad ácida (Pico violeta/fondo amarillo).
- Desaminación de la lisina. Resultado positivo: superficie rojiza/ profundidad ácida. Esto sucede con cepas del género *Proteus*, *Providencia* y alguna cepas de *Morganella* spp.
- Producción de H₂S. Resultado positivo: ennegrecimiento del medio de cultivo. Resultado negativo: el medio de cultivo permanece sin cambio de color (Laboratorios Britania S.A., 2015).

5. Materiales y Métodos

5.1 Tipo de estudio

El presente estudio tiene un enfoque cuantitativo de tipo descriptivo, prospectivo y transversal.

5.2 Área de estudio

El Hospital Isidro Ayora se encuentra ubicado en la ciudad y provincia de Loja, al sur del Ecuador. Pertenece a la parroquia Sucre, barrio Sevilla de Oro. Ubicado en la Avenida Iberoamericana (calle principal) y Juan José Samaniego (calle secundaria). Este establecimiento de salud cuenta con el nivel dos de atención y complejidad, y provee a la población los servicios de: Emergencia, Consulta Externa, Cirugía General, Odontología, Fisiatría, Hospitalización, Cuidados Intensivos (UCI) y Diagnóstico complementario, en el cual se incluyen el servicio de Imagenología y Laboratorio Clínico.

5.3 Universo

El universo constituido por 394 usuarias durante el período Diciembre 2017 – Abril 2018.

5.4 Muestra

Estuvo constituida por 164 usuarias, ya que estas cumplieron con los criterios de inclusión.

5.5 Criterios de inclusión

- Pacientes con solicitud urocultivo.
- Pacientes cuyos cultivos primarios tengan un crecimiento ≥ 1.000 UFC/mL (pacientes inmunocomprometidos, con síndrome uretral femenino, punción suprapúbica o renal percutánea) o ≥ 100.000 UFC/mL (pacientes inmunocompetentes).
- Se incluirá una muestra por paciente.

5.6 Criterios de exclusión

- Pacientes que hayan recibido terapia antibiótica por lo menos 7 días antes.
- Muestras que no conserven la cadena de frío.

- Muestras con espermatozoides o sangre de origen menstrual.
- Muestras con más de dos patógenos aislados.

5.7 Equipos y materiales

Para llevar a cabo el presente estudio y dar cumplimiento a los objetivos propuestos en el mismo, se contó con la autorización correspondiente por parte de la Dirección de Docencia e Investigación del Hospital Isidro Ayora. Dicha autorización es para la realización del Macroproyecto de Investigación denominado “Caracterización molecular de Betalactamasas aisladas en muestras de orina del Hospital Isidro Ayora y SOLCA de Loja”, macroproyecto el cual abarca dentro de sí, el estudio realizado (Anexo 1).

5.7.1 Fase preanalítica. En esta etapa se verificó aspectos muy importantes como la recolección de información y criterios éticos:

- Aplicación del consentimiento informado (Anexo 2).
- Llenado de la ficha de recolección de datos (Anexo 3).

5.7.2 Fase analítica. En esta fase se realizaron los procedimientos y técnicas relacionadas directamente con el procesamiento de la muestra, entre estos tenemos:

- Siembra de urocultivo (Anexo 4).
- Verificación de los requisitos de los cultivos empleados para el crecimiento bacteriano (Anexo 5).
- Tinción de Gram, aplicado solamente a los aislamientos donde existió dificultad en la identificación bacteriana (Anexo 6).
- Preparación de la muestra para la identificación bacteriana por el equipo automatizado (Anexo 7).
- Lectura del resultado en el equipo (Anexo 8).

5.7.3 Fase postanalítica. Fundamenta en la validación de resultados, elaboración y emisión del informe de los análisis realizados en el laboratorio:

- Recolección de los resultados de la identificación de los microorganismos de todas las muestras que se procesaron en el registro de datos del laboratorio (Anexo 9).

5.8 Instrumento de recolección de datos

Las herramientas de recolección de datos que se empleó fue la ficha de recolección de datos y el registro de datos de laboratorio generales del macroproyecto.

5.9 Presentación de datos

El instrumento que se empleó para la presentación de los datos obtenidos en la investigación son tablas y gráficas circulares, las cuales se obtuvieron mediante el análisis estadístico de la información, el cual fue realizado en el programa Microsoft Excel 2013. A cada una se le asignó un título, una frecuencia, un porcentaje y la fuente de donde se obtuvo la información.

5.10 Análisis e interpretación de datos

El análisis e interpretación de datos se realizó mediante la tabulación de los datos que se obtuvieron mediante las fichas de recolección de datos y el registro de datos de laboratorio, este último contenía la información acerca de la identificación bacteriana realizada por el equipo automatizado VITEK 2 Compact. Posterior a ello, dichos datos se relacionaron e interpretaron con la evidencia científica anexada en el presente proyecto y con la epidemiología de estas infecciones.

5.11 Consideraciones éticas

Entre las consideraciones de carácter ético con la que cuenta el proyecto está la *Autorización para el desarrollo de la Investigación*, emitida por la Subdirección de Docencia e Investigación, la cual autorizó el desarrollo del presente proyecto en el Hospital Isidro Ayora.

Otra consideración que se incluye en el proyecto, es el consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de SOLCA, el cual aseguró que cada persona participante en la investigación recibió la información de una manera clara y que acepta participar de forma voluntaria en la misma.

6. Resultados

Tabla Nro.1

Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias aislados en urocultivos en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Agentes bacterianos	Frecuencia	Porcentaje (%)
Grampositivos	10	6
Gramnegativos	154	94
Total	164	100

Fuente: Registro de datos del laboratorio

Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

En la etiología de las infecciones de vías urinarias se observa un marcado predominio de los agentes gramnegativos sobre los grampositivos. Estos datos coinciden con la bibliografía citada, la cual señala que estas infecciones son producidas en su mayoría por bacilos gramnegativos de la familia Enterobacteriaceae.

Tabla Nro.2

Identificación de bacterias gramnegativas aisladas en urocultivos en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

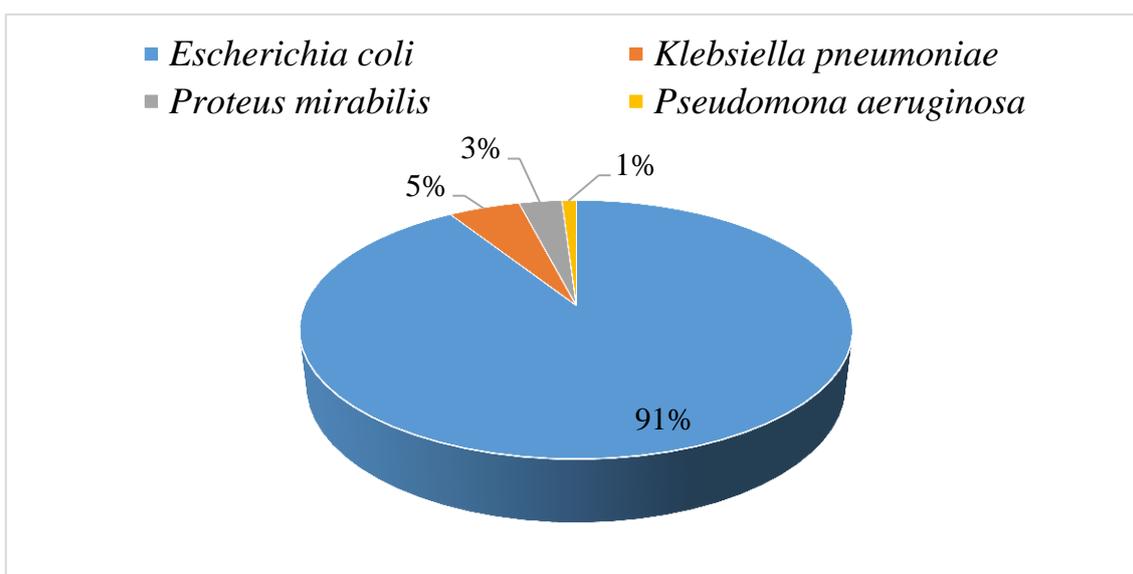
Agentes bacterianos	Frecuencia	Porcentaje (%)
<i>Escherichia coli</i>	140	91
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	5
<i>Proteus mirabilis</i>	5	3
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	1
Total	154	100

Fuente: Registro de datos del laboratorio

Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

Gráfico Nro.1

Identificación de bacterias gramnegativas aisladas en urocultivos en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).



Fuente: Registro de datos del laboratorio

Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

De todas agentes gramnegativos aislados en los urocultivos, se puede observar una clara superioridad de *E. coli* sobre el restos de agentes. Estos datos se correlacionan con la literatura citada, la cual señala que este agente es el de mayor prevalencia tanto en infecciones ambulatorias como nosocomiales.

Tabla Nro.3

Distribución de agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias según edad de la usuaria y área del servicio de salud.

Agente bacteriano	Área													
	Emergencia		Consulta externa		Gineco-obstetricia		Otros		Cirugía		UCI		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
<i>E. coli</i>	75	48.9	53	34.2	5	3.2	4	2.7	2	1.4	1	0.7	140	91
<i>K. pneumoniae</i>	4	2.7	2	1.4	-	-	2	1.4	-	-	-	-	8	5
<i>P. mirabilis</i>	2	1.4	2	1.4	-	-	-	-	1	0.6	-	-	5	3
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.7	1	1
Total	81	53	57	37	5	3	6	4	3	2	2	1	154	100

Agente bacteriano	Edad													
	Neonatos (0 a 28 días)		Lactantes (29 días a 24 meses)		Niños (25 meses a 9 años)		Adolescentes (10 a 19 años)		Adultos (20 a 59 años)		Adulto mayor (más de 60 años)		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
<i>E. coli</i>	-	-	2	1.4	8	5.2	11	7.1	78	50.6	41	26.6	140	91
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3.2	3	1.9	8	5
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.7	4	2.7	5	3
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.7	-	-	1	1
Total	-	-	2	1	8	5	11	7	85	56	48	31	154	100

Fuente: Registro de datos del laboratorio

Autor: Tayron Alberto Celly Campoverde

Las infecciones de vías urinarias tuvieron una mayor prevalencia en adultos y adultos mayores, y contrario a lo previsto existió una clara superioridad de las infecciones ambulatorias sobre las nosocomiales, presentándose el mayor número de aislamientos en las áreas de emergencia y consulta externa.

7. Discusión

Producto de la investigación realizada a 164 usuarias del Hospital Isidro Ayora, se pudo determinar que en la etiología de las infecciones de vías urinarias existe un predominio de los agentes gramnegativos (94%) sobre los grampositivos (6%). En lo referente a las infecciones causadas por agentes gramnegativos se determinó que el agente etiológico más frecuente fue *E. coli* (91%), seguido por *K. pneumoniae* (5%), *P. mirabilis* (3%) y *P. aeruginosa* (1%). Comparando estos resultados con los obtenidos en un estudio realizado en Caracas por Guevara y otros (2015) denominado “Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas aisladas de infecciones del tracto urinario en Venezuela: Resultados del estudio SMART 2009-2012”, podemos encontrar una semejanza en cuanto a los agentes bacterianos identificados. En el estudio citado también se identificó a *E. coli* (67.9%) como el agente más prevalente, seguido de *K. pneumoniae* (10.6%) y *P. mirabilis* (4.2%). Señalado esto podemos observar un punto de divergencia entre ambos estudios, el cual radica en el porcentaje de aislamientos de *E. coli*, siendo más bajo para el estudio caraqueño. Esto puede deberse al mayor número de aislamientos de bacilos gramnegativos del estudio venezolano, el cual fue 472, una cifra significativamente mayor en comparación con los 154 aislamientos de nuestra investigación. En lo referente a los porcentaje de aislamiento de *K. pneumoniae* (10.6%) y *P. mirabilis* (4.2%), estos se mantuvieron semejantes. Un aspecto a destacar es la diferencia de porcentajes obtenidos en relación con el área de servicio de donde provinieron un mayor número de aislamientos, la cual fue emergencia, el porcentaje obtenido en el estudio venezolano fue de 40% y en esta investigación de 53%. Esta variación puede ser debido a que en la investigación venezolana, las muestras provinieron de tres centros de salud y en esta investigación solamente de uno.

En un estudio llevado a cabo en Buenos Aires y La Plata, denominado “Etiología y resistencia a antimicrobianos de la infección no complicada del tracto urinario”, realizado por Bertoni y otros (2017), se determinó que al igual que en nuestra investigación el agente etiológico más frecuente fue *E. coli*, sin embargo el porcentaje de aislamientos en el estudio citado fue más bajo (70%). Esta diferencia puede ser debido a que la muestra empleada en el estudio argentino fue más pequeña (138) en comparación con la nuestra (164). Un punto a considerar entre ambas investigaciones radica en que el segundo agente más frecuentemente aislado en el estudio argentino fue *Staphylococcus saprophyticus*

(17%), un agente grampositivo, lo cual difiere con nuestros resultados, ya que en nuestro estudio se encontró una minoría de estos agentes (6%). Esta diferencia puede deberse concretamente a un criterio de inclusión de la investigación argentina, el cual especifica que un recuento $\geq 10^2$ UFC/mL para *S. saprophyticus*, se considerará como un resultado positivo.

En un estudio realizado en Medellín, por Orrego, Henao, & Cardona (2014), denominado “Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana”, se determinó que el agente etiológico más frecuente de las infecciones urinarias fue *E. coli* (69%), resultado que está acorde con nuestra investigación, pero una diferencia significativa entre ambos estudios reside en el porcentaje de aislamientos de agentes grampositivos, en el estudio medellinense el segundo agente aislado con mayor frecuencia fue *Enterococcus* spp (11%), mientras que el nuestro todos los aislamientos de agentes grampositivos solo alcanzaron un 6%. Esta incongruencia puede deberse a la marcada diferencia entre las muestras empleadas para ambos estudio, la cual es significativamente mayor en el estudio colombiano (1959) en comparación con la nuestra (164). En lo referente al grupo etario más afectados por estas infecciones también encontramos diferencias, ya que en nuestra investigación fueron adulto (56%) y adulto mayor (31%) y en el estudio colombiano fue adulto mayor (43.4%) y adulto medio (31%). Estas diferencias pueden ser atribuidas a la mayor muestra empleada en estudio colombiano, a que la investigación incluyó tanto a mujeres como hombres y a la diferencia del rango de edades para definir al grupo etario. En este último aspecto, cabe recalcar que en nuestro estudio el rango de edad para el “adulto” fue de 20 a 59 años, mientras que la investigación colombiana no utilizó este grupo, en su lugar empleo dos grupos denominados como “adulto joven” y “adulto medio”, cuyos rangos de edades comprendieron entre 21 a 44 años y 45 a 64 años respectivamente.

8. Conclusiones

Los principales agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asiste al Hospital Isidro Ayora (Loja) fueron bacilos gramnegativos, dentro de los mismos, *E. coli* fue el más prevalente, seguido de *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*.

Las infecciones de vías urinarias afectaron con mayor frecuencia a los adultos y adultos mayores y son predominantemente del tipo ambulatorio, presentándose mayormente en los servicios de emergencia y consulta externa.

9. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos en la investigación y después de observar que los grupos etarios más afectados son adulto y adulto mayor, se recomienda:

- Realizar charlas informativas por parte del Ministerio de Salud Pública, las cuales estén dirigidas a los diferentes establecimientos de salud, para que enfatizen su atención sobre estas infecciones y de esta manera tener especial consideración con los pacientes cuyas edades correspondan a los grupos etarios de adulto y adulto mayor, ya que son grupos vulnerables.
- Realizar campañas dirigidas a familiares, personal de casas de retiro o cualquier otra persona que tenga a su cuidado adultos o adultos mayores, para concienciar a cada uno de ellos, de que estos grupos etarios son más susceptibles de adquirir infección de vías urinarias.

10. Bibliografía

- Balasina, C., Reina, R., & Llerena, M. (2015). *Infectología crítica*. Buenos Aires: Panamericana. ISBN: 9789500602914
- Bertoni, G., Pessacq, R., Guerrini, M., Calmaggi, A., Barberis, F., Jorge, L., . . . Mykietiuk, A. (2017). Etiología y resistencia a antimicrobianos de la infección no complicada del tracto urinario. Obtenido de: <http://ref.scielo.org/mh2s6s>
- Brüel, A., Christensen, E., Trandum-Jensen, J., Qvortrup, K., & Geneser, F. (2015). *Geneser Histología*. México D. F.: Panamericana. ISBN: 9786079356231
- Carroll, K., Mietzner, T., Miller, S., & Morse, S. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg, Microbiología Médica*. México D. F.: McGrawHill Education. ISBN: 9786071513700
- González, E. (29 de Mayo de 2015). *Infección del tracto urinario*. Obtenido de: <http://cort.as/-8rmy>
- Guevara, N., Guzmán, M., Merentes, A., Rizzi, A., Papapatzikos, J., Rivero, N., . . . Limas, Y. (2015). Revista Chilena de Infectología. Obtenido de *Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas aisladas de infecciones del tracto urinario en Venezuela: Resultados del estudio SMART 2009-2012*: <http://cort.as/-8rn1>
- INEC. (2015). *Dirección Nacional de Estadística y Análisis de información de salud - DNEAIS - Perfil*. Obtenido de Principales causas de morbilidad 2015: <http://cort.as/-8rn3>
- *Laboratorio Britania S.A.* (2015). Obtenido de Christensen Medio (Urea Agar Base): <http://cort.as/-8rn4>
- *Laboratorios Britania S.A.* (2015). Obtenido de Lisina Hierro Agar: <http://cort.as/-8rn6>
- *Laboratorios Britania S.A.* (2015). Obtenido de SIM Medio: <http://cort.as/-8rn8>
- *Laboratorios Britania S.A.* (2015). Obtenido de Simmons Citrato Agar: <http://cort.as/-8rnB>
- *Laboratorios Britania S.A.* (2015). Obtenido de T.S.I. Agar (Triple Sugar Iron Agar): <http://cort.as/-8rnD>
- Lopardo, H., Predari, S., & Vay, C. (2016). *Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología*. Obtenido de Bacterias de importancia clínica: <http://cort.as/-8rnG>

- McAninch, J., & Lue, T. (2014). *Urología General*. México D. F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA. ISBN: 9786071509789
- Mérida, F., & Moreno, E. (2015). *Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico*. Madrid: Panamericana. ISBN: 9788498354232
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2017). *Microbiología Médica*. Barcelona: Elseiver. ISBN: 9788491130765
- Orrego, C., Henao, C., & Cardona, J. (16 de Octubre de 2014). *Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana*. Obtenido de <http://ref.scielo.org/frkd5h>
- Pierce, B. (2016). *Genética. Un enfoque conceptual*. Madrid: Panamericana. ISBN: 9788498353921
- Pigrau, C. (2013). *Infección del Tracto urinario*. Barcelona: Salvat.
- Procop, G., Church, D., Hall, G., Janda, W., Koneman, E., Schreckenbergen, & Woods, G. (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Wolters Kluwe. ISBN: 9788416781669
- Ryan, K., Ray, G., Ahmad, N., Drew, L., Lagunoff, M., Pottinger, P., . . . Sterling, C. (2014). *Sherris, Medical Microbiology*. New York: McGraw-Hill Education. ISBN: 9780071818261
- Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. (2016). *Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE)*. Obtenido de Informe global de España - Resumen provisional: <http://cort.as/-8rnL>
- Sola, M., Rodríguez, M., & Monteagudo, N. (2017). *Boletín Farmacoterapéutico de Castilla de la Mancha*. Obtenido de Infecciones Urinarias: <http://cort.as/-8rnO>
- Strasinger, S., & Schaub Di Lorenzo, M. (2016). *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales*. México: Panamericana. ISBN: 9786079356811
- Tille, P. (2014). *Bailey & Scott's, Diagnostic Microbiology*. St. Louis: Elsevier. ISBN: 9780323083300
- Vargas, T., & Kuno, A. (2014). *Morfología bacteriana*. *Revista de Actualización Clínica*, 2595-2596.

11. Anexos



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 1

Proyecto: Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Autorización del Macroproyecto


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. Ledo. 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
Dr. Daniel Alfredo Pacheco Montoya
SUBDIRECTOR DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 2

Proyecto. Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Consentimiento informado

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

Historia Clínica.....
Fecha:

Número de cédula.....
Hora: 12:40.....

APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRES	
<i>[Handwritten]</i>	<i>[Handwritten]</i>	<i>[Handwritten]</i>	
ESTADO CIVIL	NACIONALIDAD	DOMICILIO	EDAD
<i>[Handwritten]</i>	<i>[Handwritten]</i>	<i>[Handwritten]</i>	25

¿EN QUÉ CONSISTE?

Su muestra de orina que va a ser incluida en un estudio se usará para identificar las bacterias causantes de la infección y determinar la posible presencia de bacterias resistentes y ciertas sustancias (betalactamasas) que causan que las bacterias sean resistentes al tratamiento con ciertos antibióticos.

La muestra debe ser la primera orina de la mañana, o por lo menos luego de 4 horas de retención, se debe realizar lavado de los genitales con agua y jabón, luego orinar desechando el primer chorro, y recolectar el resto de la orina en un frasco estéril. Se debe llevar la muestra enseguida al laboratorio de SOLCA.

Los resultados se informarán al propio laboratorio y no tienen ningún costo extra. En caso de que su muestra de orina sea positiva para infección uno de los participantes del presente proyecto tomará una muestra de las bacterias que crecieron 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.

EFFECTOS 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.

<i>[Handwritten Name]</i> Nombre del paciente	<i>[Handwritten Signature]</i> Firma del paciente
---	---

Firma del Responsable de la investigación

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA:

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

Nombre completo del paciente	Cédula de ciudadanía	Nombre del investigador
-------------------------------------	-----------------------------	--------------------------------

REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

Nombre completo del paciente	Cédula de ciudadanía	Nombre del investigador
-------------------------------------	-----------------------------	--------------------------------



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 3

Proyecto. Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Ficha de recolección de datos



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO**

FORMULARIO PARA PACIENTES QUE SE SOMETERAN AL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MOLECULAR PARA AISLAR BETALACTAMASAS EN EL HOSPITAL SOLCA LOJA Y HOSPITAL ISIDRO AYORA

Hospital	HIAG		Servicio	Emergencia	
Edad	25		Género	Mujer	
Profesión	Ama de casa		Procedencia	Ambulatorio	
Tipo de muestra	Orina		Hospitalizado	Si	No <input checked="" type="checkbox"/>
Sondas, catéteres	Si		No <input checked="" type="checkbox"/>		
	Especifique				
Hora de la toma de la muestra	12:30		Hora de llegada al laboratorio	12:41	
¿Consume antibióticos con regularidad?	Si	No <input checked="" type="checkbox"/>		¿Por qué?	
¿Consume pollo, huevos o leche?	Si	<input checked="" type="checkbox"/>		No	
Primera vez con infección de vías urinarias	Si <input checked="" type="checkbox"/>	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?		



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 4

Proyecto. Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Siembra de urocultivo

Definición. 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.

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 colores 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 y 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 la siembra a 37° 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 UFC/ 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 UFC/mL. Cuando el recuento revela valores intermedios, entre 10.0000 y 100.000 UFC/mL, el examen debe repetirse. Conviene advertir que pueden pasar inadvertidas infecciones urinarias verdaderas, si no se toman en cuenta recuentos inferiores a 100.000 UFC/mL, ya que existen diversos factores que pueden explicar recuentos bajos en infecciones urinarias verdaderas, como por ejemplo: diuresis acentuada, obstrucción uretral, infecciones crónicas e infecciones por cocos grampositivos.

Objetivo. Definir los pasos necesarios para garantizar la correcta siembra de las muestras de orina en medios los de cultivo, de tal manera que se obtengan colonias aisladas que permitan diferenciar las características de las mismas y el fenómeno de hemólisis en agar sangre.

Equipos y materiales.

- 1 Asa bacteriológica de platino calibrada (0.01 mL)
- 1 Mechero Bunsen o lámpara de alcohol al 70%
- 1 Incubadora
- 1 Muestra de orina
- 1 Caja bipetri con agar sangre y MacConkey
- 1 Lápiz graso
- 1 par de guantes

Muestra biológica.

- Orina

Procedimiento.

Procedimiento para realizar un cultivo bacteriano es necesario

- Rotular todo el material a utilizar con el código correspondiente.
- Esterilizar el asa calibrada.
- Homogenizar la muestra de orina.
- Destapar la muestra e introducir el asa calibrada esterilizada de 0.01 mL en posición vertical.
- Inocular la placa de agar sangre y MacConkey por estría primaria y secundaria.
- Incubar a 35°C, por 24 horas.

Lectura de cultivo en UFC/mL

- Anotar las características de las colonias y el número de colonias diferentes.
- Contar después de la incubación, el número de colonias desarrolladas y el resultado se multiplica por 100, ya que el asa de platino contiene 0.01 mL. de orina.
- Reportar los resultados de la siguiente manera:
 - ✓ No hubo desarrollo microbiano.
 - ✓ Menos (<) de 10 000 UFC/mL.
 - ✓ Entre 10 000 y 100 000 UFC/mL.
 - ✓ Más de (>) 100 000 UFC/mL.

Observaciones.

- La siembra debe realizarse a partir de orina sin centrifugar con un asa calibrada, esto permitirá obtener una estimación semicuantitativa del desarrollo microbiano.
- 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 5

Proyecto: Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Tabla de requisitos del cultivo

Tarjeta de Gramnegativos	Medios	Tiempo de cultivo ¹	Condiciones de incubación	Patrones McFarland	Dilución para AST	Tiempo de suspensión antes de cargar el instrumento
GN	TSA ^{2,3}	18 a 24	35 a 37 °C	Patrón	N/A ⁴	≤ 30 minutos
	CBA ^{2,3}	horas 18	Atmósfera	McFarland		
	MAC ^{2,3}	a 24	aerobia, sin	entre 0,50 y		
	BCP	horas	CO ₂	0,63		
	CET					
	CLED					
	CHOC					
	CHOC					
	PVX					
	CHBA					
	CNT					
	CPS ID					
	DENA					
	DRIG					
	HEK					
	SM ID					
	TSAHB					
TSAB						
TSAL						
VRBG						
XLD						
GN y AST	Par					
	CBA	18 a 24	35 a 37 °C	Patrón	145 µL	< 30 minutos
GN	MAC	horas	Atmósfera	McFarland	en 3.0	
	TSAB		aerobia, sin	entre 0,50 y	mL en	
	CPS ID		CO ₂	0,63	solución salina	

¹Los cultivos con crecimiento escaso o deficiente pueden brindar resultados no identificados o incorrectos incluso cuando se cumple con los requisitos de tiempo del cultivo.

²Estos medios fueron utilizados en el desarrollo de la base de datos de productos de identificación y darán óptimos resultados.

³Medio validado por OMA (Official Methods of Analysis).

⁴N/A = No aplicable.

(Continua...)

Abreviatura	Medio de cultivo
BCP	Agar púrpura de bromocresol
CBA	Agar Columbia con sangre de carnero al 5 %
CET	Agar cetrimida
CHBA	Agar Columbia con sangre de caballo
CHOC	Agar chocolate
CHOC PVX	Agar Chocolate polyvitex
CLED	Agar cistina, lactosa, deficiente en electrolitos
CNT	Count-TACT®
CPS ID	chromID™ CPS (agar CPS ID)
DENA	Agar neutralizante DE
DRIG	Agar Drigalski
HEK	Agar Hektoen
MAC	Agar MacConkey
SM ID	chromID™ Salmonella (agar ID2 SM)
TSA	Agar de soja Trypticase
TSAB	Agar de soja Trypticase con sangre de carnero al 5%
TSAHB	Agar de Trypcase soja con sangre de caballo al 5%
TSAL	TSA con lecitina y P80
VRBG	Agar con cristal violeta, rojo neutro, bilis y glucosa
XLD	Deoxicolato xilosa lisina

Fuente: VITEK 2 - technology



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 6

Proyecto. Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Tinción de Gram.

Definición. Es una coloración diferencial, dado que las bacterias pueden clasificarse según su respuesta en grampositivas o gramnegativas. Las primeras se tiñen de color azul violeta y las segundas adquieren un color rosado o rojo. La diferente reacción de las bacterias a la coloración de Gram se relaciona con diferencias fundamentales de la envoltura celular de estas dos clases de células.

Objetivo. Clasificar a las bacterias en base a las características de tinción en grampositivas y gramnegativas.

Equipos y materiales.

- 1 Porta objetos
- 1 Asa bacteriológica
- Cultivo bacteriano puro
- Kit de tinción de Gram
- Mechero Bunsen
- Suero fisiológico
- Aceite de inmersión
- Soporte para placas

Procedimiento.

- Colocar una pequeña gota de suero fisiológico en el portaobjetos.
- Flamear un asa bacteriológica a la llama del mechero Bunsen y esperar que enfríe.
- Tomar varias colonias del cultivo puro y colocarlas en el portaobjetos mediante movimientos circulares.
- Fijar el material al portaobjeto de modo que no sea arrastrado durante el proceso de tinción, pasando rápidamente el portaobjeto 3 o 4 veces por la llama del mechero.
- Colocar el portaobjetos sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de cristal violeta.
- Colorear un minuto y lavar con agua.
- Cubrir la lámina con lugol durante un minuto. Lavar nuevamente con agua.

- Colocar sobre la superficie del portaobjetos unas gotas de alcohol acetona hasta no arrastrar más colorante violeta. Generalmente requiere de unos 20 a 30 segundos.
- Lavar con agua y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte.
- Cubrir la superficie con safranina durante un minuto. Lavar con agua.
- Dejar secar la lámina.
- Examinar la lámina coloreada al microscopio colocando una gota de aceite de inmersión y observar con el objetivo de 100 x.

Resultados. Las bacterias adquirirán una coloración roja o rojiza se denominaran gramnegativas y las que adquieran una coloración azul grampositivas. Además se puede observar la morfología de la bacteria y así poder discernir si se observan formas cocoideas o bacilares.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 7

Proyecto. Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Preparación de la muestra para la identificación bacteriana por el equipo automatizado

Definición. 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 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.

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.

Equipos y materiales.

- 1 Equipo automatizado para identificación bacteriana (VITEK 2).
- 1 Tarjeta o cassette de identificación bacteriana que viene con el equipo.
- 1 Tubos de ensayo desechables de plástico transparente (poliestireno) limpios de 12 x 75 mm.
- Solución salina estéril a 0,45 a 0,50 %, con un pH de 4,5 a 7,0.
- 1 Bastoncillo o torunda estéril.

- 1 Densitómetro calibrado
- 1 Pipeta automáticas de 1000 μ L
- 1 Punta para pipeta automática
- 1 Cultivo bacteriano puro en un medio no selectivo (agar sangre)
- 1 Dispensador de solución salina de volumen ajustable.

Procedimiento.

- Rotular los materiales a usar.
- Seleccionar el cultivo en el cual deseamos identificar el microorganismo.
- Preparar el inóculo a partir de un cultivo puro (muestra sembrada en agar sangre), según las buenas prácticas de laboratorio.
- Elegir colonias aisladas de una placa primaria si se satisfacen los requisitos del cultivo (Anexo 5). De ser necesario subcultivar el organismo a analizar en el medio de agar apropiado e incúbelo adecuadamente.
- Transferir asépticamente 3 mL de solución salina estéril (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.
- Transferir con un bastoncillo o torunda estériles una cantidad suficiente de colonias morfológicamente similares al tubo con solución salina preparado en el paso anterior.
- Preparar 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.
- Colocar el tubo con la suspensión y la tarjeta en el casete.
- Introducir el casete en el equipo.
- Introducir los datos correspondientes en el equipo.
- Eliminar correctamente los desechos biológicos peligrosos y todo el material utilizado como corresponda, ya sea en desechos comunes, cortopunzantes o especiales.

Resultados. El software compara el conjunto de reacciones de los 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 el personal del laboratorio de microbiología. El equipo automatizado para identificación bacteriana emitirá un informa impreso con el microorganismo.

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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

ANEXO 8

Proyecto: Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Lectura del resultado del equipo

HOSPITAL ISIDRO AYORA
Informe clínico

Nº de Cliente: _____ Editado: _____

Nombre del paciente: _____ Nº paciente: 0706628625
Localización: EME Médico: _____
Nº de examen: _____ Nº de aislamiento: 1

Cantidad de organismo: 100 000 cfu/mL
Organismo seleccionado: Escherichia coli

Origen: _____ Recogida: _____

Comentarios:	

Información de identificación	Tiempo de análisis: 4,75 horas	Estado: Final
Organismo seleccionado	96% Probabilidad Escherichia coli	
Mensajes de análisis de ID	Bionúmero: 0405610554424610	

Información de sensibilidad	Tiempo de análisis: 7,75 horas	Estado: Final			
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	NEG	-	Amicacina	<= 2	S
Ampicilina/Sulbactam	16	I	Gentamicina	<= 1	S
Cefotaxima	<= 1	S	Ciprofloxacino	<= 0,25	S
Ceftazidima	<= 1	S	Norfloxacino	<= 0,5	S
Ceftriaxona	<= 1	S	Nitrofurantoína	<= 16	S
Cefepima	<= 1	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol	>= 320	R
Meropenem	<= 0,25	S			

+ = Antibiótico deducido * = AES modificado ** = Usuario modificado

Conclusiones de AES	
Nivel de confianza:	Coherente



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
 FACULTAD DE SALUD HUMANA
 CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ANEXO 10

Proyecto: Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja).

Certificación de traducción del resumen


"Easy English" School of Languages
 Centro de Preparación para Exámenes Internacionales de Cambridge English Qualifications



Lic. Mg. Sc. Alex Fernández C.
Director Académico
"Easy English" School of Languages

CERTIFICA:

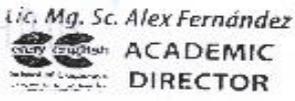
Que hemos realizado la traducción de español a inglés del artículo científico y resumen derivado de la tesis: **"Agentes bacterianos causantes de infección de vías urinarias en mujeres que asisten al Hospital Isidro Ayora (Loja)"**

De la autoría del señor: **Tayron Alberto Celly Campoverde**, portador de la cédula de identidad número **1105704165**, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, misma que se encuentra bajo la dirección de la Dra. Magister María de los Ángeles Sánchez Tapia.

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

Loja, 22 de Agosto del 2018


Lic. Mg. Sc. Alex Fernández
DIRECTOR ACADÉMICO


Lic. Mg. Sc. Alex Fernández
ACADEMIC
DIRECTOR


School of Languages
Aquí si se aprende!
RUC: 1103991145001

Aquí si se aprende!

Lauro Guerrero entre Tealante Maximiliano Rodríguez y Mercadillo
 Telefax: 07 2 560 310 E-mail: easyenglishloja@gmail.com