



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

**Identificación de agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias
de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe**

**Trabajo de Integración Curricular
previo a la obtención del título de
Licenciado en Laboratorio Clínico**

AUTOR:

Juan Diego Ludeña García

DIRECTORA:

Lic. Iliana Alicia Delgado. Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2022

Loja, 22 de septiembre de 2022

Lic. Iliana Alicia. Delgado. Mg Sc.

DIRECTORA DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del trabajo de Integración Curricular denominado: **Identificación de agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe**, previo a la obtención del título de **Licenciado en Laboratorio Clínico**, de la autoría del estudiante **Juan Diego Ludeña García**, con **cédula de identidad Nro. 1105006389**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa



ILIANA
ALICIA
DELGADO

Firmado digitalmente por
ILIANA ALICIA
DELGADO
Fecha: 2022.09.22
11:32:33 -05'00'

Lic. Iliana Alicia Delgado. Mg. Sc

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Juan Diego Ludeña García**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja así como sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales por el contenido del mismo.

Adicionalmente, acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



Firma:

Cédula de identidad: 1105006389

Fecha: 14 de noviembre de 2022

Correo electrónico: juan.ludena@unl.edu.ec

Teléfono: 0960610150

Carta de autorización por parte del autor para consulta, reproducción parcial o total y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Juan Diego Ludeña García**, declaro ser el autor del Trabajo de Integración Curricular denominado **Identificación de agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe**, como requisito para optar por el título de **Licenciado en Laboratorio Clínico**; autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido del presente trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información tanto del país como del exterior, con las cuales tenga convenio la universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular o de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 14 días del mes de noviembre de dos mil veintidós.



Firma:

Autor: Juan Diego Ludeña García.

Cédula: 1105006389.

Dirección: Barrio los Geranios.

Correo electrónico: juan.ludena@unl.edu.ec

Teléfono: 0960610150.

Datos complementarios:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Lic. Iliana Alicia Delgado. Mg. Sc.

Dedicatoria

El presente trabajo de integración curricular lo dedico primeramente a Dios, porque a pesar de todo nunca me ha abandonado y me ha dado fuerzas en los momentos que más he necesitado, a la vez que me ha enseñado que con paciencia, esfuerzo y humildad se puede lograr todo, permitiéndome así poder lograr el tan añorado logro propuesto cuando inicie esta carrera profesional; a mi madre Lic. Zoila Ludeña, por brindarme todo el apoyo, esfuerzo y sacrificio que ha dado por mi durante este caminar, porque nunca me ha dejado solo, y por ser mi motor de cada día para seguir luchando por este sueño; a mis tíos, tías, primos, primas y más familiares más cercanos que desde pequeño me enseñaron muchas cosas y me brindaron sus consejos para ser mejor en la vida; a mis amigos Cristhian José., Norman Santiago., Stiveen Jhoel., Jhon Sebastián entre otros, que han estado ahí acompañándome y brindándome una mano durante el transcurso de la vida; a mis amigos Jonathan Fernando y María Belén por su amistad y compañerismo en este camino profesional desde que iniciamos este gran sueño y por no rendirse jamás a pesar de las adversidades; a mis docentes por brindarme todas las enseñanzas durante estos 4 años de carrera y por los valores de perseverancia, trabajo y entrega para que pueda llegar a feliz término la presente investigación.

Juan Diego Ludeña García

Agradecimiento

Mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad de Salud Humana y la Carrera de Laboratorio Clínico, a toda su planta docente en cabeza de la Dra. Sandra Freire, por brindar los conocimientos requeridos en el campo del Laboratorio Clínico tanto a nivel teórico como práctico, con el propósito de ser un buen aporte para la sociedad, de manera especial a la Lic. Iliana. A. Delgado quien fue mi asesora durante la realización del presente trabajo, y quien me oriento de manera adecuada para lograr con los objetivos planteados y poder culminar el mismo. Agradezco a mi madre porque gracias a ella, he llegado a esta meta; a los familiares cercanos que de una u otra manera pusieron su granito de arena durante el transcurso de formación profesional. De igual manera un agradecimiento personal a la Lic. Silvia Molina y Lic. Diana Ramón por su predisposición de ayuda en los Laboratorio de Microbiología y CDM de la facultad.

A la vez un agradecimiento al Proyecto de Vinculación encabezado por la Lic. Ivanova Zúñiga, Bq. Daniel Riascos, Lic. Iliana Delgado, Bq. María del Cisne Luzuriaga por haberme brindado la oportunidad de aportar en el mismo.

Juan Diego Ludeña García

Índice de Contenidos

Certificación	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Anexos	ix
1. Título	1
2. Resumen.....	2
3. Introducción	4
4. Marco teórico	6
5. Metodología	17
6. Resultados	20
7. Discusión	21
8. Conclusiones	24
9. Recomendaciones.....	25
10. Bibliografía	26
11. Anexos	33

Índice de figuras

Figura 1. Prevalencia de agentes etiológicos presentes en urocultivos positivos de pacientes embarazadas del Centro de Salud Motupe en el período Mayo – Agosto 2022.....	20
--	-----------

Índice de Anexos

Anexo 1. Oficio de pertinencia de trabajo de integración curricular	33
Anexo 2. Oficio de designación de la directora del trabajo de integración curricular	34
Anexo 3. Consentimiento informado	35
Anexo 4. Tabla de registro de datos	37
Anexo 5. Protocolo para toma de muestra de orina	38
Anexo 6. Protocolo para transporte de muestras de orina al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana	40
Anexo 7. Protocolo de Control de Calidad con cepas ATCC de E. coli y S. aureus.....	43
Anexo 8. Protocolo para el Examen General de Orina (EMO)	51
Anexo 9. Protocolo para realización de urocultivo.....	54
Anexo 10. Protocolo para tinción de Gram	57
Anexo 11. Procedimiento para realización de pruebas bioquímicas para bacterias gram positivas	59
Anexo 12. Protocolo para identificación de bacterias gram negativas de importancia clínica	64
Anexo 13. Llenado de datos en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 21	69
Anexo 14. Evidencias fotográficas del trabajo realizado.....	70
Anexo 15. Certificado de traducción de Abstract.....	73

1. Título

Identificación de agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe.

2. Resumen

Las infecciones de vías urinarias o infecciones del tracto urinario se definen como la presencia de gérmenes que presentan la capacidad de producir afecciones o alteraciones a nivel morfológico y funcional del sistema urinario, siendo el sexo femenino el más afectado por la anatomía que presenta; más aún en el embarazo pues durante los 3 trimestres de gestación se presentan diversos cambios anatómicos, mecánicos, fisiológicos y hormonales que pueden favorecer a la colonización de agentes uropatógeno a nivel del tracto urinario, llegando a presentarse al menos un episodio de ITU durante este período. Es por eso que en la presente investigación se planteó identificar los agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud Motupe, la metodología utilizada fue con enfoque de tipo cuantitativo, con diseño no experimental, corte transversal descriptivo; se evaluaron un total de 203 muestras de pacientes embarazadas cuya edad oscilo entre los 16 y 43 años de edad, de las cuales 126 pacientes embarazadas cumplieron con los criterios de inclusión y cuyo examen EMO presentó características y valores de una posible infección urinaria. Se realizaron tinciones de Gram y posteriores siembras en medios de cultivo en agar: sangre, MacConkey y Eosina Azul de Metileno (EMB); a la vez que se corroboró mediante pruebas bioquímicas de confirmación como Citrato, Urea, SIM, Lisina y TSI, con lo cual se pudo determinar un total de 18 crecimientos bacterianos en donde los agentes etiológicos más frecuentes fueron *Escherichia. coli* y *Klebsiella pneumoniae* siendo el primero el que más prevaleció con un 94.44% seguido de *Klebsiella pneumoniae* con un 5,56%.

Palabras Claves

Pacientes embarazadas, infección urinaria, agentes etiológicos, Enterobacterias, urocultivo.

2.1 Abstract

Urinary tract infections or urinary tract infections are defined as the presence of germs that have the ability to produce affections or alterations at the morphological and functional level of the urinary system, with the female sex being the most affected by the anatomy it presents; even more so in pregnancy because during the 3 trimesters of gestation there are various anatomical, mechanical, physiological and hormonal changes that can favor the colonization of uropathogenic agents at the level of the urinary tract, reaching at least one episode of ITU occurred during this period. That is why in the present research it was proposed to identify the etiological agents in urinary tract infections of pregnant patients that went to the Motupe Health Center, the methodology used was with a quantitative approach, with non-experimental design, descriptive cross-section; a total of 203 samples were evaluated from pregnant patients whose age ranged between 16 and 43 years of age, of which 126 pregnant patients met the inclusion criteria and whose EMO examination presented characteristics and values of a possible urinary tract infection. Gram stains and subsequent sowing were performed in culture media in agar: blood, MacConkey and Methylene Blue Eosin (EMB); while it was corroborated by confirmatory biochemical test such as Citrate, Urea, SIM, Lysine and TSI, with which it was possible to determine a total of 18 bacterial growths where the most frequent etiological agents were *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* being the first the most prevalent with 94,44% followed by *Klebsiella pneumoniae* with 5,56%.

Keywords

Pregnant patients, urinary tract infection, etiological agents, Enterobacteria, urine culture.

3. Introducción

Las infecciones de vías urinarias (IVU), se definen como la presencia de microorganismos con la capacidad de producir o generar afecciones o alteraciones tanto a nivel morfológico como funcional del sistema urinario. Este tipo de infecciones se caracteriza por presentarse de manera más recurrente en el sexo femenino por la anatomía del tracto genitourinario, los diversos hábitos de micción y algunas situaciones de carácter fisiológico como el embarazo (Viquez et al., 2020).

Es importante mencionar que durante el estado de gestación se da al menos un episodio de ITU con presencia de bacteriuria asintomática con una prevalencia de entre 2 – 10%, la cual puede llegar a tener una similitud a la de pacientes no embarazadas pero con una tasa de recurrencia elevada (Viquez et al., 2020).

Dentro del campo de la salud y el laboratorio clínico, la identificación temprana de este tipo de infecciones es de suma importancia puesto que, las bacterias que causan este tipo de afección son patógenas, y en el caso de las mujeres embarazadas, se considera que estas patologías son más comunes en lo que respecta a consultas de atención primaria de salud, llegando a representar un riesgo tanto para la madre como para el feto, ya que la diseminación de una infección de este tipo puede generar amenaza de aborto, ruptura prematura de membrana e inclusive muerte fetal. (López, 2021).

A nivel de América Latina, una investigación ejecutada en la ciudad de México, pudo determinar que este tipo de infecciones son causadas mayormente por bacterias Gram negativas siendo la predominante *Escherichia coli* con 56% , seguido de *Klebsiella pneumoniae* con 11% y *Enterococcus* spp con 10% (Martinez, 2021).

De igual manera otra investigación realizada en Colombia, de un total de 30.000 urocultivos realizados a nivel nacional, menciona que el agente etiológicos más frecuentes en ese país es *Escherichia coli*, llegando a ser el responsable de entre el 75 % al 95% de las ITU, seguido de *Klebsiella pneumoniae* (Delgado et al., 2020).

A nivel local, el estudio llevado a cabo en el año 2019 en el Hospital Isidro Ayora de Loja a 206 pacientes en estado de gestación, reveló una tasa elevada de infecciones de vías urinarias, siendo *Escherichia coli* el agente patógeno mayormente aislado, presentando un porcentaje de 78,94 % de prevalencia (Granda y Espinosa, 2019).

Referente al sector de Motupe, mediante datos obtenidos del Ministerio de Salud Pública en la zona 7, acota que las cifras estadísticas del Centro de Salud son cifras alarmantes, puesto

que de 328 pacientes embarazadas que fueron atendidas durante el año 2019, un 49,1% presentaron infecciones de vías urinarias, mientras que el 50,9% presentaron infecciones genitales en sus diferentes etiologías (Ministerio de Salud Pública, 2019).

Por lo antes mencionado y debido a la importancia del diagnóstico oportuno de infección del tracto urinario en la gestación, se planteó el objetivo de identificar los agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe, y a la vez determinar la prevalencia de los mismos.

Todo esto permite dar un aporte y un beneficio para la población de pacientes embarazadas del sector Motupe y demás barrios aledaños al mismo, ayudando con un diagnóstico temprano y eficaz de la misma que permita al médico generar un tratamiento adecuado.

Este trabajo pretende también servir de aporte a las diferentes investigaciones que se realizan con temas similares al presente, dando así una pauta que pueda permitir correlacionar y dar una solución a este tipo de problemáticas que se presentan en el campo de la salud y la sociedad en general no solo a nivel local sino también a nivel nacional e internacional.

4. Marco teórico

4.1. Definiciones

4.1.1. Infecciones del tracto urinario

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se detalla como la invasión de microorganismos de carácter patógeno de las vías urinarias en una concentración mayor o igual a 100.000 unidades formadoras de colonias (UFC), por lo que representan una de las causas más frecuentes de enfermedades de tipo infecciosas en la práctica médica; a la vez se conoce que es un problema que afecta a aproximadamente 155 millones de personas al año (Sanín et al., 2019).

Los autores (Agreda et al., 2021) en su investigación hacen alusión, que la bacteria *Escherichia coli* es la causante de más del 85% de estas infecciones, seguido de otras especies que pertenecen a los géneros *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus* y *Enterococcus* que tienden a presentarse de manera fluctuante.

Esto se apoya en otra investigación en la cual Collado et al., (2017) mencionan que “*Escherichia coli* es la bacteria mayormente causante de estas infecciones, indicando a la vez que un diagnóstico y posterior tratamiento acertado es de gran importancia, porque permite evitar complicaciones a nivel del tracto urinario” (p. 481).

4.1.2. Etiología

El origen de las infecciones del tracto urinario se relaciona con diferentes factores como la diabetes, la edad, el sexo, el estado reproductivo en las mujeres, e inclusive la cateterización urinaria. Se conoce que, las ITU se generan por agentes patógenos que habitan normalmente en el intestino, como las bacterias Gram negativas, especialmente las Enterobacterias. Por lo tanto, la invasión del aparato urinario se da cuando los microorganismos mencionados superan las barreras de defensa del organismo, con lo cual posteriormente tienden a causar infección y provocar enfermedades en personas que presentan trastornos metabólicos, anatómicos o inmunitario (Baldeyrou y Tattevin, 2018).

4.2. Clasificación de las ITU

Las ITU se clasifican en alta y baja, por lo cual cada una de ellas tienden a originar diferentes afecciones en el tracto urinario. Es así que los autores Kalinderi et al., (2018) identifican 3 tipos de ITU entre las cuales se pueden mencionar:

4.2.1. ITU Alta

Es una infección de vías urinarias altas cuyo nombre toma el de pielonefritis aguda, afectando a la pelvis y al parénquima renal, cuyos síntomas locales son el dolor lumbar y la fiebre.

4.2.2. ITU Baja

Es una infección de vías urinarias bajas y se la denomina cistitis, esta afección se caracteriza por presentar disuria, micción urgente, polaquiuria, presencia de dolor a nivel suprapúbico a la vez que se presenta una orina de mal olor, que puede estar acompañada de sangre.

4.3. ITU en embarazo

Durante los tres trimestres de gestación, el cuerpo de la mujer gestante sufre diversas modificaciones tanto anatómicas como funcionales, mismas que tienden a incrementar el riesgo de padecer una infección del tracto urinario. En el primer trimestre de la gestación se dan modificaciones entre las cuales se puede considerar el aumento del volumen urinario en los uréteres, llegando a producirse una columna líquida que favorece la propagación de la infección. En el segundo trimestre se puede producir la obstrucción parcial del uréter como consecuencia del útero grávido puesto que se da una rotación hacia la derecha, se incrementa el pH de la orina factor que puede permitir que se dé una multiplicación bacteriana. Finalmente durante el tercer trimestre de gestación se ha llegado a mencionar que entre un 2% y 10% de las pacientes tienden a desarrollar bacteriuria asintomática, entre el 30% y el 50% pueden desarrollar pielonefritis pudiendo llegar a sufrir insuficiencia renal aguda, shock séptico o sepsis; o consecuencias como parto prematuro o muerte fetal (Ortiz et al., 2022).

4.4. Bacterias

Las bacterias son microorganismos de tipo unicelular procariotas, constan de genoma de tipo ADN, se encuentran envueltas por una pared celular, la forma de reproducción se puede dar como fisión binaria, conjugación, esporulación, o bipartición, y presentan una característica de adaptación rápida al entorno en el que se encuentren. Se conoce que el tamaño de las bacterias oscila entre 2 a 10 μm . El citoplasma se encuentra ocupado por ribosomas; la parte de material genético cuyo componente es el ADN o ácido desoxirribonucleico se encuentra formando un conglomerado compacto, que no posee membrana nuclear. La membrana citoplasmática se encuentra rodeada por una pared elástica y dura, su componente es un peptidoglicano, cuya función adicional es darle forma a la célula (Prats, 2006).

4.4.1. Morfología de las bacterias

La forma de las bacterias va a depender de la pared celular, cuya función es proporcionar elasticidad, a la vez que brinda también rigidez. Las bacterias se tienden a presentar de manera habitual como elementos esféricos a los que se los llama cocos; cuando se presentan como elementos alargados se les conoce como bacilos. También es de interés mencionar el termino bacterias pleomorfas cuya característica es modificar su forma, un claro ejemplo es *Helicobacter pylori* (Liébaña, 2002).

4.4.1.1. Cocos.

Presentan una forma redondeada de manera habitual, aunque en ocasiones existen excepciones y tienden a aparecer de forma ovoidea, con un lado aplanado, llegando a parecerse a un riñón, o inclusive con un extremo afilado a manera de forma lanceolada. Se pueden agrupar de dos en dos llegando a llamarse diplococos, de cuatro en cuatro y llamarse tétradas, formando cadenas llamándose estreptococos, formando racimos llamándose estafilococos o inclusive en forma de cubo llamándose sarcinas (Carroll et al., 2016).

4.4.1.2. Bacilos.

Se presentan de manera alargada y ocasionalmente de manera corta llegando a llamarse cocobacilos. Los extremos de los bacilos pueden ser variables, lo que sabe permitir su identificación, es así que existen bacilos que presentan terminaciones como Angulo recto, afiladas, redondeadas, engrosadas, hasta en forma de maza; todo esto puede deberse a la forma de la bacteria. De manera diferente que los cocos, los bacilos no se saben agrupar pero ocasionalmente saben aparecer como diplobacilos, estreptobacilos, o grupos irregulares (Murray et al., 2014).

4.4.2. Estructura bacteriana

4.4.2.1. Pared Celular.

La pared celular es una compleja estructura que se encuentra rodeando a la bacteria, se encuentra compuesta por peptidoglicanos como lo es la mureína, o por varios glucopéptidos, que se encuentran conformados de componentes como el N- acetilglucosamina, N- acetilmurámico y un compuesto de aminoácidos como el glutamato y alanina denominado tetrapéptido. La importancia de la pared celular es que permite diferenciar a las bacterias en 2 grupos: Bacterias Gram Positivas y Bacterias Gram Negativas (Murray et al., 2014).

4.4.2.2. Membrana Citoplasmática.

Su composición está dada por fosfolípidos y proteínas, y a diferencia de las células eucariotas esta membrana no contiene esteroides; también se da lo que es la producción de energía a través de transporte electrónico, y se sintetizan los componentes tanto de pared celular como de la cápsula. Otra de las importantes funciones de la membrana citoplasmática es que sirve de barrera con cualidades selectivas de manera activa (Troncoso et al., 2017).

4.4.2.3. Citoplasma.

Se define citoplasma al sistema coloidal que presenta una fase dispersante que es el agua así como diferentes sustancias en solución, a la vez presenta una fase dispersada que son todas las macromoléculas y partículas submicroscópicas. El citoplasma se encuentra delimitado por la membrana citoplasmática (Lucana y Huanca, 2014).

4.4.2.4. Ribosomas.

Se encuentran presentes en el citoplasma, y se encuentran conformados por diversas proteínas y ARN, de manera que se asocian al ARN mensajero (ARNm), el cual puede ser traducido por varios ribosomas a la vez; en esta organela se puede dar el sitio de acción de diversos tipos de antibióticos como los aminoglucósidos, tetraciclinas etc. (Berlanga y Guerrero, 2017).

4.4.2.5. Nucleoide.

Se conoce como falso núcleo a la vez se lo conoce como equivalente nuclear, carece de membrana celular y se encuentra formado por un filamento de ADN que es el que genera las condiciones genéticas de la bacteria (Carroll et al., 2016).

4.4.2.6. Cápsula.

Este elemento puede encontrarse o no presente en la bacteria, se caracteriza por ubicarse fuera de la pared celular, se tiende a formar cuando las bacterias producen material capsular que al momento de adherirse a la membrana recibe la denominación de cápsula. Se conoce que ésta no es una estructura indispensable para la bacteria, pero su función es proteger a la bacteria cuando se da la fagocitosis (Murray et al., 2014).

4.4.3. Bacterias Gram Negativas

4.4.3.1. Enterobacterias.

Se caracterizan por medir entre 1 a 3 μm de largo y 0.05 μm de diámetro. Presentan la peculiaridad de forma de bacilos Gram negativos con longitud variable, respiración aerobia o anaerobia facultativa, así como la característica de ser o no móviles, con presencia de flagelos.

Entre las características de esta familia de bacterias se encuentra la capacidad de fermentar y oxidar glucosa, en ciertas ocasiones con producción de gas; así mismo esta familia de bacterias son oxidasa negativas y catalasa positiva, a la vez de presentar la capacidad de reducir los nitratos a nitritos (Nau y Metzgar, 2019).

4.4.3.2. Agentes etiológicos Gram negativos causantes de ITU.

4.4.3.2.1. *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa, presenta forma de bastón y pertenece a la familia de *Enterobacteriaceae*; presenta diversidad de cepas patógenas que causan enfermedades, llegando a representar más de 2 millones de muertes cada año. Existen seis patotipos de *E. coli*, entre las cuales se encuentra la *E. coli* (STEC) o productora de toxina Shiga, *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* adherente y *E. coli* enteroagregativa (EAEC) (Jang et al., 2017).

Es uno de los microorganismos más estudiados, tienen la capacidad de fermentar lactosa, producir indol mediante el triptófano; se encuentra normalmente formando parte del tracto, pero también es común que cuando se localiza en el tracto urinario genere infección. (Ríos-Muñoz et al., 2019).

Algunos autores coinciden que todas las variantes de *E. coli* actúan mediante diversos factores de virulencia como toxinas o adhesinas. Se conoce que entre todas las variantes mencionadas la más importante de recalcar por su gran agresividad es la *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) (Linzitto y Tunes, 2019; Salame et al., 2018).

4.4.3.2.2. *Klebsiella*.

Klebsiella pneumoniae es una bacteria Gram negativa se puede localizar de manera ubicua en la mucosa de los animales e inclusive en el medio ambiente ya sea en el suelo o en el agua. En lo que respecta a seres humanos *K. pneumoniae* se ubica en el tracto gastrointestinal o en ocasiones en la nasofaringe, mediante lo cual este microorganismo puede ingresar al sistema sanguíneo o tejidos llegando a causar una infección (Wang et al., 2020).

Se conoce que este microorganismo forma parte de las especies más relevantes clínicamente, de manera especial en individuos inmunocomprometidos, siendo responsables de infecciones adquiridas en la comunidad, infecciones nosocomiales, neumonías, bacteriemias, abscesos hepáticos e infecciones del tracto urinario (Lee et al., 2017).

4.4.3.2.3. *Enterobacter.*

Enterobacter se define como un género que pertenece a la familia de Enterobacteriaceae, se asocia principalmente a infecciones relacionadas con asistencia sanitaria. Adicionalmente se conoce que las diversas especies de *Enterobacter* son responsables de causar infecciones nosocomiales, a la vez infecciones adquiridas en comunidad, adjuntadas las infecciones del tracto urinario (Ramirez y Giron, 2022).

4.4.3.2.4. *Citrobacter.*

Citrobacter pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos que se encuentran en la comida, el agua, suelo, vegetación y formando parte de la microbiota del tracto intestinal. Dentro de este género se encuentra *Citrobacter freundii* que es un bacilo Gram negativo, y se lo conoce como agente etiológico de diversas patologías como infecciones gastrointestinales, heridas e ITU, a la vez meningitis y sepsis, de manera especial en pacientes hospitalizados e inmunocomprometidos (Ullauri & Freire, 2019).

4.4.3.2.5. *Proteus.*

Dentro del género *Proteus* se encuentra *Proteus mirabilis*, que es una bacteria Gram negativa con forma de bastón, se la conoce por la producción de ureasa, la capacidad de diferenciación en células de enjambre alargadas y por el patrón de motilidad en forma de ojo de buey en agar. *P. mirabilis* es causante frecuente de infecciones del tracto urinario asociadas con el catéter; las infecciones pueden presentarse con urolitiasis, desarrollar cálculos renales y vesicales, e inclusive generar daño renal (Armbruster et al., 2018).

4.4.4. Bacterias Gram positivas

4.4.4.1. *Staphylococcus.*

Son bacterias con forma esférica Gram positivas, presentan un diámetro de 1µm aproximadamente dispuestos en racimos irregulares. Se caracterizan por no ser móviles, fermentar carbohidratos, producir pigmentos y no formar esporas. Presenta al menos 40 especies, siendo tres las especies de importancia clínica entre los que se puede mencionar el *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus* (Carroll et al., 2016).

4.4.4.2. *Streptococcus y Enterococcus.*

Los enterococos, estreptococos y otros microorganismos relacionados, son bacterias con forma esférica, que tienden a formar pares o cadenas, algunos presentan su localización es la microbiota normal del ser humano, mientras que otros llegan a ocasionar enfermedades graves.

Los estreptococos se pueden clasificar en diversas categorías debido a la morfología de colonias y hemólisis en agar sangre; debido a su especificidad de los antígenos de Lancefield; a sus reacciones bioquímicas y a sus características ecológicas (Carroll et al., 2016).

Los enterococos por su parte tienen una sustancia específica del grupo D que es un ácido teicoico pero no constituye un marcador antigénico bueno. Este tipo de bacterias forma parte de la microbiota normal, se caracterizan por ser no hemolíticos aunque rara vez son α hemolíticos, además tienden a proliferar en presencia de bilis, hidrolizando al esculina, son más resistentes a la penicilina que los estreptococos y variedad de cepas son resistentes a la vancomicina (Carroll et al., 2016).

4.4.5. Agentes etiológicos Gram positivos causantes de ITU

4.4.5.1. Staphylococcus saprophyticus.

Staphylococcus saprophyticus constituye una de las principales causas de infección del tracto urinario adquiridas en mujeres jóvenes en un 10% a 20 %; a la vez se menciona que existen complicaciones raras como pielonefritis aguda, nefrolitiasis y endocarditis. Por otra parte, se considera que este estafilococo presenta una frecuencia de infección recurrente mucho mayor que la causada por *E. coli* a pesar de tener una tasa mayor de tratamiento exitoso (Lawal et al., 2021).

4.4.5.2. Enterococcus spp.

Los enterococos también forman parte de los microorganismos que pueden llegar a causar infecciones del tracto urinario. Se conoce que *Enterococcus faecalis* es la especie más prevalente del género *Enterococcus*, llegando a generar múltiples enfermedades infecciosas como endocarditis, peritonitis, sepsis, meningitis neonatal, infecciones abdominales, e ITU, siendo considerado en esta última como uno de los principales agentes patógenos en clínicas a nivel mundial (Ma et al., 2021).

4.4.5.3. Streptococcus agalactiae.

S. agalactiae es un estreptococo alfa – hemolítico del grupo B, se encuentra colonizando el tracto gastrointestinal y se considera de manera principal como agente causante de meningitis y sepsis en los recién nacidos, esto por transmisión intrauterina o durante el parto al pasar por el canal colonizado. Se conoce a la vez que es causante de infección de vías urinarias puesto que coloniza esta parte anatómica de la mujer gestante y representa un factor de riesgo para un posible desarrollo de pielonefritis, sepsis neonatal y corioamnionitis (Coria et al., 2018).

4.5. Métodos Diagnósticos

4.5.1. Urocultivo

Los urocultivos consisten en cultivar orina en cantidades medidas en medios sólidos, lo que va a permitir contabilizar las colonias que surgen luego de la incubación con el objetivo de saber el número de bacterias por milímetro. Se conoce que el método ordinado consiste en inocular 0.05 ml de orina sin diluir, en medios como agar sangre, MacConkey, EMB entre otros (Prats, 2006).

Un urocultivo se considera una prueba fundamental para identificar un agente causal de infecciones, a la vez que es la puerta de inicio para la realización de antibiograma que dará el aporte de sensibilidad o resistencia de determinada bacteria a los antibióticos (Ullauri, 2020).

4.5.2. Medios selectivos para aislar Enterobacterias

Se conoce que existe una variedad de medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos. El autor Prats (2006) describe diversos medios de cultivo entre los cuales se puede mencionar:

4.5.2.1. Agar Sangre.

Medio enriquecido utilizado para el cultivo de microorganismos de carácter exigente, además que permite determinar reacciones hemolíticas típicas de diversas bacterias. Se prepara añadiendo 5% de sangre de carnero al agar base rico como agar Columbia, agar GC, TSA, agar brúcela y otros. De requerir leer la hemólisis el agar se preparará sin azúcares.

4.5.2.2. Agar MacConkey.

Es un medio selectivo específico para bacilos Gram negativos como enterobacterias, pseudomonas entre otros, puesto que contiene sales biliares y cristal violeta. Además contiene lactosa, rojo neutro, lo que facilita observar características de bacterias que atacan lactosa como la *E. coli*, y *Klebsiella* y que permite diferenciarlas de las que no atacan como *salmonella*, *Proteus Shigella*, etc.

4.5.2.3. Agar eosina azul de metileno (EMB).

Este medio es de tipo selectivo diferencial, para bacterias Gram negativas. Contener colorantes en el medio permite inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas; a la vez se permite la diferenciación de enterobacterias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras. Un ejemplo es *E. coli* que es lactosa positiva, y presenta un brillo verde metálico característico.

4.5.3. Pruebas bioquímicas para Identificación de bacterias Gram negativas

4.5.3.1. Prueba de Citrato.

El citrato es parte del grupo de pruebas de identificación de la familia Enterobacteriaceae de bacterias Gram negativas y no fermentadoras. La utilidad de esta prueba es diferenciar los géneros de la familia mencionada anteriormente (MacFaddin, 2004).

4.5.3.2. Prueba de SIM.

La prueba de SIM (Indol, Movimiento, ácido sulfhídrico); sirve para algunas bacterias heterotróficas que poseen la habilidad de liberar azufre de los aminoácidos que lo contienen, produciendo el H₂S. Por otra parte, las bacterias también tienen la capacidad de desintegrar el triptófano en indol, amoníaco o ácido pirúvico. Cuando se detecta la presencia de Indol se observa una formación de color rosado a rojo en el medio luego de añadir el reactivo Kovacs. Referente a la movilidad, esta permite observar si el agente microbiano presenta flagelos (Ullauri, 2020).

4.5.3.3. Prueba de TSI.

Mediante esta prueba se puede determinar la capacidad de una bacteria de utilizar la glucosa, sacarosa o lactosa para producir ácido sulfhídrico y producción de gas. Esta prueba se utiliza de manera preferible para identificar enterobacterias (Ullauri, 2020).

4.5.3.4. Prueba de Urea.

Esta prueba se basa en la capacidad de las bacterias para hidrolizar urea y descomponerla en amoníaco a través de la enzima ureasa; si se da esta reacción el medio se alcaliniza y cambia de color (MacFaddin, 2004).

4.5.3.5. Prueba de Lisina.

La prueba de lisina permite conocer la capacidad de ciertas bacterias para desaminar la lisina, la importancia de esta prueba es que permite identificar Salmonella. Se conoce que si la prueba es positiva es porque la bacteria presenta la enzima descarboxilasa la cual forma cadaverina por lo que el medio se va a alcalinizar; el medio también contiene hierro por lo que también se puede detectar la formación de sulfuro de hidrógeno (Ullauri, 2020).

4.5.3.6. Prueba de oxidasa.

Esta prueba que fue diseñada para identificar especies de *Neisseria* fue utilizado posteriormente para distinguir miembros de la familia Pseudomonadaceae de los que conforman la familia Enterobacteriaceae oxidasa negativos (MacFaddin, 2004).

4.5.4. Pruebas bioquímicas para Identificación de bacterias Gram positivas

4.5.4.1. Prueba de catalasa.

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Esta prueba permite diferenciar entre los géneros *Streptococcus* que son catalasa negativos, de los *Micrococcus* o *Staphylococcus* que son catalasa positivos (MacFaddin, 2004).

4.5.4.2. Prueba de la coagulasa.

Coagulasa es una enzima proteica, que presenta actividad semejante a la protombina, capaz de transformar fibrinógeno en fibrina, lo que da la formación de un coágulo visible. La prueba de coagulasa en el laboratorio se utiliza para diferenciar al *Staphylococcus aureus* que es coagulasa positivo de otros estafilococos o micrococos (Ullauri, 2020).

4.5.4.3. Prueba de fermentación de manitol.

Esta prueba permite determinar si los gérmenes tienen la capacidad de fermentar el manitol para lo cual liberan productos ácidos que serán detectados gracias al indicador rojo de fenol, que cambiara a color amarillo. La realización de esta prueba permite diferenciar a *S. aureus* de otras especies de estafilococos pues el único que fermenta el manitol (Murray et al., 2014).

4.5.4.4. Prueba de susceptibilidad a la novobiocina.

Los diversos estafilococos coagulasa negativo se pueden dividir en especies sensibles y resistentes a la novobiocina; una de las especies resistentes a la novobiocina es el *S. saprophyticus* (Ullauri, 2020).

4.5.4.5. Prueba de bacitracina.

La prueba de la bacitracina permite realizar un diagnóstico presuntivo para la identificación de *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A de Lancefield, lo que marca una diferencia referente a la mayoría de los estreptococos que suelen ser sensibles a concentraciones bajas de bacitracina (Bou et al., 2011).

4.5.4.6. Prueba de SXT.

La resistencia del SXT en bajas concentraciones por parte del *Streptococcus* del grupo A, hace que esta prueba sea un gran complemento con la bacitracina para su posterior identificación (MacFaddin, 2004).

4.5.4.7. Prueba de CAMP.

La prueba se basa en que los *Streptococcus* del grupo B producen un factor CAMP que intensifica y actúa sinérgicamente con la beta hemólisis producida por la mayoría de las cepas de *S. aureus* en el medio de agar sangre (MacFaddin, 2004).

4.5.4.8. Prueba de optoquina.

El disco de optoquina de manera específica se utiliza para diferenciar los *Streptococcus pneumoniae* de otras especies de *Streptococcus* alfa hemolíticos como los *S. viridans* (MacFaddin, 2004).

4.5.4.9. Prueba de bilis esculina.

La prueba se basa a partir de la capacidad que tienen algunas bacterias de manera particular los *Streptococcus* del grupo D y especies de *Enterococcus* spp, de poder tolerar cantidades elevadas de concentración de bilis. Para poder detectar esta tolerancia se tiende a añadir esculina, misma que se hidroliza si la bacteria se desarrolla; la posterior hidrólisis permite la formación de glucosa y el compuesto esculina que al reaccionar con iones férricos da la formación de un complejo negro (Bou et al., 2011).

5. Metodología

5.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Loja, con ubicación geográfica al Sur del Ecuador, en el Centro de Salud Motupe, el cual se encuentra ubicado en el Barrio Motupe Bajo, el mismo que está al Norte de la ciudad de Loja a unos 7 Km del centro de la misma, este Centro de Salud pertenece a la Parroquia el Valle; unidad de salud correspondiente al primer nivel de atención de salud que pertenece al Ministerio de Salud Pública y forma parte del distrito 11D01, cuenta con servicios de atención a la salud de la comunidad del sector norte de Motupe de: Medicina General, Odontología, Odontopediatría, Enfermería, y Trabajo Social; de igual forma, cuenta con la disponibilidad de servicios auxiliares de diagnóstico en Laboratorio Clínico y Farmacia Institucional.

5.2. Consideraciones éticas

El presente trabajo se llevó a cabo primeramente dando a conocer a las participantes el consentimiento informado que es el documento que habilita poder utilizar sus muestras, todo esto se lo realizó con cordialidad, respeto y trato justo como lo menciona la declaración de Helsinki. Durante el transcurso de la presente investigación se brindó la privacidad correspondiente respecto a la información manejada, tomando en cuenta la confidencialidad y la discreción respectiva.

Los datos que se recopilaban en el estudio de tipo investigativo se documentaron de manera anónima y siguiendo la fecha de recepción de la muestra, para lo cual se generaron códigos individuales como el número de la muestra, la primera inicial de cada nombre y apellido de la paciente, seguido del número de cedula.

El estudio de investigación es de riesgo mínimo, puesto que no se aplicarán toma de muestras invasivas al requerir un espécimen como la orina, todo esto acorde al reglamento de Ley General de Salud.

Tampoco existieron conflictos de intereses, puesto que el estudio de investigación únicamente era de interés académico, con fines de obtener la titulación en Laboratorio Clínico.

5.3. Procedimiento

5.3.1. Enfoque metodológico

El presente estudio de investigación fue de enfoque cuantitativo.

5.3.2. Tipo de diseño

El diseño del presente estudio fue no experimental, de corte transversal descriptivo.

5.3.3. Técnicas de recolección de datos

Los instrumentos utilizados en la recolección de datos abarcaron la ficha de registro de datos (Anexo 4). Este documento contuvo varios ítems como fecha de recepción de muestra, número de la muestra, nombre y apellidos de la paciente, edad, cedula de identidad, teléfono semanas de gestación y observaciones en cuyo contenido se especificaba el tipo de muestra recolectada.

5.3.4. Universo

El presente trabajo de investigación estuvo constituido por pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud Motupe en el período Mayo – Agosto 2022, cuyas edades oscilaron entre los 16 a 43 años, con el fin de obtener atención en consulta externa debido a la realización de controles mensuales por su estado gestacional.

5.3.5. Muestra

La muestra estuvo conformada por 126 pacientes embarazadas, cuyos resultados de laboratorio mediante la realización de un Elemental y Microscópico de Orina (EMO) presentaron indicios y valores que puedan inferir en una posible infección del tracto urinario, y que a la vez cumplieron con los criterios de inclusión.

5.3.6. Tipo de muestreo

En la investigación se utilizó muestreo no probabilístico.

5.3.7. Criterios de inclusión

Pacientes embarazada con un cuadro compatible con sospecha ITU o cursando las ITU.

Pacientes embarazadas que hayan firmado el consentimiento informado.

5.3.8. Criterios de exclusión

Pacientes que estén recibiendo tratamiento antibiótico por diversas causas.

Pacientes cuyas muestras se encuentren contaminadas con secreción vaginal.

5.3.9. Procesamiento de las muestras en el laboratorio

Fase preanalítica.

Consentimiento Informado (Anexo 3)

Tabla de registro de datos (Anexo 4)

Protocolo para toma de muestra de orina (Anexo 5)

Protocolo para transporte de muestras de orina al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana (Anexo 6)

Ejecución de control de calidad de medios de cultivo y tinción de Gram, previa realización de urocultivo (Anexo 7).

Fase analítica

Protocolo para análisis de Examen General de Orina (EMO) (Anexo 8).

Protocolo para realización de urocultivo (Anexo 9).

Protocolo para tinción de Gram en muestra de orina (Anexo 10).

Procedimiento para realización de pruebas bioquímicas para bacterias gram positivas (Anexo 11)

Procedimiento para realización de pruebas bioquímicas para bacterias gram negativas (Anexo 12)

Fase post analítica

Validación y reporte de resultados bajo la supervisión del director de trabajo de integración curricular y difusión de los mismos al responsable del área donde se realizó el estudio.

5.4. Procesamiento y análisis de datos.

Para realizar la presente investigación se procedió a instalar y utilizar el programa “IBM SPSS Statistics” versión 21 para el respectivo ingreso de los datos. Luego, se realizó el llenado de ficha de recolección de datos (Anexo 13), en el sistema SPSS Statistics versión 21 tomando en cuenta las variables como son: código de fecha de recepción y procesamiento de la muestra, número de cédula, edad, semanas de gestación, urocultivo, crecimiento significativo, y agentes etiológicos en caso de haber crecimiento bacteriano.

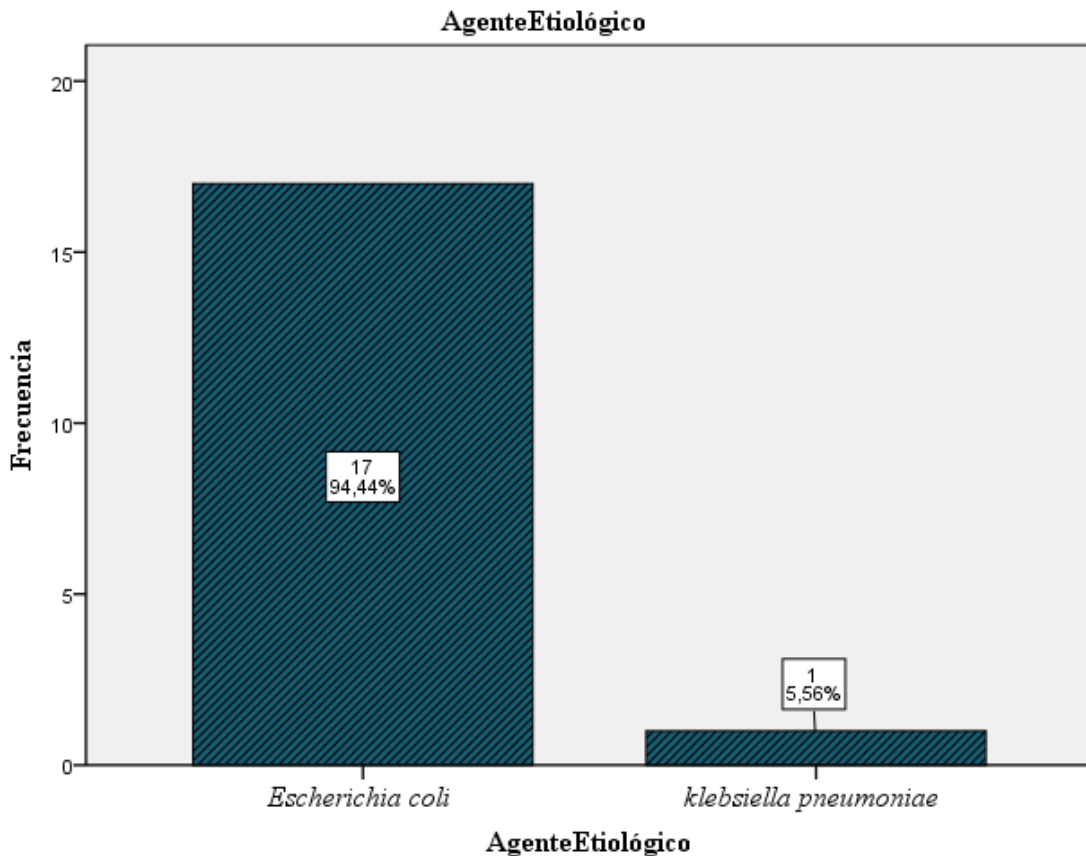
6. Resultados

Se evaluaron 203 muestras de orina de pacientes en periodo de gestación de 16 a 43 años de edad; del total de las muestras evaluadas, 126 cumplieron los criterios de inclusión, de las cuales 69 muestras ameritaron urocultivo, teniendo un crecimiento bacteriano en 18 cultivos; todos ellos gram negativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*: 17 *Escherichia coli* y 1 *Klebsiella pneumoniae*.

Se encontró a *E. coli* con el 94,44% como el agente con mayor prevalencia en urocultivos positivos seguido de *Klebsiella pneumoniae* con el 5,56% (Figura 1).

Figura 1.

Prevalencia de agentes etiológicos presentes en urocultivos positivos de pacientes embarazadas del Centro de Salud Motupe en el período Mayo – Agosto 2022



7. Discusión

Se define a la infección del tracto urinario como la invasión o colonización de microorganismos patógenos con una concentración mayor o igual a 100.000 UFC, cuya sintomatología puede presentarse como a la vez no. La infección urinaria en las pacientes gestantes debe ser objeto de tamización puesto que es la segunda complicación más recurrente que de no ser tratada puede dar origen a patologías como pielonefritis, cistitis, a la vez que puede acompañarse de resultados perinatales no deseados como ruptura de membrana, parto pretérmino, bajo peso al nacer e inclusive muerte fetal (Sanín-Ramírez et al., 2019).

Los agentes etiológicos que causaron mayormente infecciones de vías urinarias en el presente estudio fueron microorganismos que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* entre las cuales se puede mencionar a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*; esto se contrasta con el estudio realizado por (De La Hoz, 2021) en 3 Centros de atención del Eje, Cafetero en Colombia, en donde luego de aislar bacterias en 169 muestras determinó que los agentes etiológicos más predominantes eran *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp seguido de otros microorganismos como *Enterococcus* spp, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermidis*. De la misma manera el resultado obtenido concuerda con la investigación realizada por (Belete y Saravanan, 2020) quienes realizaron una revisión sistemática de diversos estudios siendo 26 los elegibles, de los cuales se aislaron las bacterias gram negativas y gram positivas, siendo las primeras las que representaron la mayoría de infecciones con *Escherichia coli* como el uropatógeno más predominante.

Otro estudio realizado por (Saquipay Ortega et al., 2021) en el Hospital Municipal del Niño y la Mujer de Cuenca, determinó que del total de 120 muestras estudiadas, el germen de mayor frecuencia en infecciones de vías urinarias fue *Escherichia coli*, seguido de otros microorganismos como *Proteus* spp que son parte de la familia *Enterobacteriaceae*.

Por lo antes observado, en la presente investigación y en los diversos estudios se puede mencionar que *E. coli* es el uropatógeno que mayormente causa infecciones de vías urinarias; de manera general las mujeres son susceptibles a contraer infección pero las gestantes son mayormente propensas a este riesgo, esto debido a los diferentes cambios hormonales, estructurales, funcionales, mecánicos y anatómicos, como la dilatación de vía urinaria, relajación de esfínter uretral, disminución de peristaltismo ureteral, el útero agrandado comprime los uréteres y la vejiga lo que permite el almacenamiento de residuos posmiccionales; también la progesterona

disminuye la contractilidad y tono de las fibras musculares lisas del uréter que desencadena la reducción de peristaltismo ureteral y reflujo vesicoureteral (Quirós & Apolaya, 2018).

E. coli habitualmente se encuentra en los alimentos, en el medio ambiente y formando parte de la microbiota intestinal de animales y seres humanos; por tanto una infección de este tipo se conoce como de carácter ascendente esto debido a que los microorganismos como *E. coli* tienden a moverse desde la región perineal y vaginal hasta la zona uretral; todo esto lo logra debido a que presenta apéndices en la superficie conformados por una proteína llamada intimina, que permite a la bacteria adherirse a la superficie de las células del epitelio del tracto urinario; a la vez se menciona que la anatomía de la uretra de la mujer facilita la probabilidad de colonización debido a que es más corta y se abre más cerca de la región anal, sumándole que durante el embarazo se da una serie de cambios de posición de las vías urinarias lo que facilita mayormente que se den colonizaciones de este microorganismo a nivel de las vías urinarias llegando a causar infección (Belete y Saravanan, 2020).

Respecto a la prevalencia de infección de vías urinarias en las gestantes, en el presente estudio se pudo determinar que la prevalencia de *Escherichia coli* fue del 94,44% seguido de *Klebsiella pneumoniae* con un 5,56%, hallazgo que es superior al 75,46% de prevalencia de *Escherichia coli* reportado por (Quirós y Apolaya, 2018) en una clínica privada en Lima (Perú) a partir de 110 urocultivos positivos.

Similarmente en la investigación realizada en una clínica de Bogotá, Colombia por (Herrera y Gomez, 2018) quienes obtuvieron un total de 1177 urocultivos positivos pudieron determinar que el microorganismo uropatógeno que más prevaleció fue *Escherichia coli* con un 71,4% seguido de *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*; lo cual es muy superior al porcentaje obtenido por (Bello et al., 2018) en el Hospital General Docente “Ernesto Guevara de la Serna” en Cuba, cuyo estudio se dio en 238 urocultivos positivos en donde predominó *Enterococcus spp* (39,07%) seguido de *Enterobacter spp* (26,05%) y *Escherichia coli* (18,48%).

Se observa que *E. coli* prevalece en la mayoría de estudios, y esto se relaciona directamente con diversos factores de carácter biológico mencionados anteriormente y factores de carácter socioeconómico ya que las condiciones de vida influyen mucho en la salud de las gestantes, ya sea por la adecuada alimentación, la presencia o ausencia de los servicios básicos, la oportuna atención y seguimiento de salud ya que en el caso del presente estudio se enfocó en un Centro de salud el

cual no cuenta con todas las opciones de exámenes de laboratorio, lo cual se convierte en un factor para que se dé la continuidad de esta prevalencia, ya que de existir un mejor sistema de salud la prevalencia tendería a disminuir por los adecuados controles periódicos y seguimientos adecuados del control en gestantes.

8. Conclusiones

- Se reconocieron *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. mediante el urocultivo en agar sangre, agar MacConkey, agar Eosina Azul de Metileno (EMB) a la vez que se realizaron pruebas bioquímicas de citrato, lisina, SIM, TSI, Urea, para corroborar su identificación adecuada.
- La prevalencia de *Escherichia coli* es de 94,44 % mientras que *Klebsiella pneumoniae* es de 5,56%.

9. Recomendaciones

- Es de importancia continuar con el seguimiento de pacientes que han presentado cuadros de IVU a fin de evitar que exista infecciones recurrentes durante el periodo de gestación y posterior al mismo.
- Realizar continuos estudios en la población de pacientes gestantes, con el fin de determinar si existe la presencia de nuevos agentes etiológicos de tipo Gram negativos y Gram positivos que puedan ser causantes de infecciones de vías urinarias.

10. Bibliografía

- Agreda, I., Campoverde, J., Cabrera, M., Maldonado, C., Arias, R., Durazno, A., Aguilera, V., Santamaría, E., Mosquera, L., Soria, C., Lema, B., & Cárdenas, M. (2021). Características microbiológicas de pacientes con urocultivos positivos del Hospital Universitario del Río, Ecuador. *Revista de Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 40(5), 506–509. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.5450745>
- Arispe, M., Callizaya, L., Yana, L., Mendoza, M., Mixto, J., Valdez, B., Mendoza, E., Margariños, W., & Torrico, B. (2019). Importancia del examen general de orina, en el diagnóstico preliminar de patologías de vías urinarias renales y sistémicas, en mujeres aparentemente sanas. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas*, 7(1), 93–101. http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v7n1/v7n1_a09.pdf
- Armbruster, C. E., Mobley, H. L. T., & Pearson, M. M. (2018). Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Infection. *EcoSal Plus*, 8(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017>
- Baldeyrou, M., & Tattevin, P. (2018). Infecciones urinarias. *EMC - Tratado de Medicina*, 22(2), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(18\)89311-4](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(18)89311-4)
- Belete, M. A., & Saravanan, M. (2020). A Systematic Review on Drug Resistant Urinary Tract Infection Among Pregnant Women in Developing Countries in Africa and Asia; 2005–2016. *Infection and Drug Resistance*, Volume 13, 1465–1477. <https://doi.org/10.2147/IDR.S250654>
- Bellido, A. (2018). “*INCIDENCIA DE ENTEROBACTERIAS CAUSANTES DE ITU EN PACIENTES AMBULATORIOS EN EL LABORATORIO ARCÁNGEL DE AREQUIPA EN EL PERÍODO DEL 1 DE AGOSTO DEL 2017 AL 31 DE ENERO DEL 2018*”. [UNIVERSIDAD NACIONAL SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA]. <http://190.119.145.154/bitstream/handle/UNSA/5891/BIbebeak.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bello, Z., Cozme, Y., Pérez, Y., Cruz, A., & Bello, A. (2018). Resistencia antimicrobiana en embarazadas con urocultivo positivo. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 43(4), 1–6. <http://revzoilomarinellosld.sld.cu/index.php/zmv/article/view/1433>
- Berlanga, M., & Guerrero, R. (2017). La complejidad de lo simple: la célula bacteriana. *Revista Química Viva*, 16(2), 11–19. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86352507003>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos

- de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Brunzel, N. (2014). *Fundamentos del Análisis de Orina y Fluidos Corporales* (G. Santa Cruz, Y. López, D. Adarme, & J. Pineda (eds.); 3a ed.). AMOLCA.
- Cañadas, M., & García, P. (2020). *LECTURA INTERPRETATIVA DEL ANTIBIOGRAMA DE COCOS GRAM POSITIVOS BASADA EN LOS CRITERIOS DE ORGANISMOS INTERNACIONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA A NIVEL DE LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE MEDIANA Y ALTA COMP* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR]. http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18873/2.PlanTT_MFCañadas_PGarcía.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Carroll, K., Morse, S., Mietzner, T., Miller, S., Hobden, J., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., & Sakanari, J. (2016). *MICROBIOLOGÍA MÉDICA* (S. A. D. C. V. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES (ed.); 27a ed.). McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- Collado, O., Barreto, H., Rodríguez, H., Barreto, G., & Abreu, O. (2017). Especies bacterianas asociadas a infecciones del tracto urinario. *Rev. Arch Med Camaguey*, 21(4), 479–486. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicocamaguey/amc-2017/amc174f.pdf>
- Coria, M., Guzzetti, P., Suárez, M., Vigliarolo, L., Viegas, J., & Lopardo, H. (2018). Infecciones urinarias por *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus saprophyticus* y embarazo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 52(4), 423–428. <https://www.redalyc.org/journal/535/53568431005/html/>
- De La Hoz, F. J. E. (2021). Infección Urinaria en Gestantes: Prevalencia y Factores Asociados en el Eje Cafetero, Colombia, 2018-2019. *Revista Urología Colombiana / Colombian Urology Journal*, 30(02), 098–104. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1722238>
- Delgado, J., Albarracín Ruiz, M. J., Rangel-Vera, J. A., Galeano-Salazar, E., Niño-vargas, D., Wilches-Cuadros, M. A., Dominguez-García, L., & Torres-Dueñas, D. (2020). Perfil de resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos en pacientes con infección urinaria de un centro de referencia en Bucaramanga. *MedUNAB*, 23(3), 405–422. <https://doi.org/10.29375/01237047.3950>
- García-Alegría, J., Vázquez-Fernández del Pozo, S., Salcedo-Fernández, F., García-Lechuz

- Moya, J. M., Andrés Zaragoza-Gaynor, G., López-Orive, M., García-San Jose, S., & Casado-Durández, P. (2017). Compromiso por la calidad de las sociedades científicas en España. *Revista Clínica Española*, 217(4), 212–221.
<https://doi.org/10.1016/j.rce.2017.02.008>
- Granda, A., & Espinosa, M. (2019). *Prevalencia de infecciones del tracto urinario (ITU) en el segundo y tercer trimestre de embarazo y riesgo de parto prematuro en pacientes del Hospital Isidro Ayora durante el período Enero 2014 Enero 2017* [Universidad Técnica Particular de Loja]. <https://dspace.utpl.edu.ec/handle/20.500.11962/24804>
- HERRERA MENDEZ, M., & GOMEZ BOSSA, M. A. (2018). RESISTENCIA BACTERIANA EN UROCULTIVOS DE UNA POBLACIÓN DE EMBARAZADAS DE CONTROL PRENATAL EN BOGOTÁ JUNIO 2013 – JUNIO 2015. *Biociencias*, 13(2), 95–104.
<https://doi.org/10.18041/2390-0512/biociencias.2.5003>
- Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental Escherichia coli : ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Kalinderi, K., Delkos, D., Kalinderis, M., Athanasiadis, A., & Kalogiannidis, I. (2018). Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 38(4), 448–453.
<https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1370579>
- Koneman. (2008). *Diagnóstico Microbiológico* (EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA (ed.); 6A ed.).
- Lawal, O. U., Fraqueza, M. J., Bouchami, O., Worning, P., Bartels, M. D., Gonçalves, M. L., Paixão, P., Gonçalves, E., Toscano, C., Empel, J., Urbaś, M., Domínguez, M. A., Westh, H., de Lencastre, H., & Miragaia, M. (2021). Foodborne Origin and Local and Global Spread of Staphylococcus saprophyticus Causing Human Urinary Tract Infections. *Emerging Infectious Diseases*, 27(3), 880–893. <https://doi.org/10.3201/eid2703.200852>
- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, K. S., Jeon, J. H., Kim, Y. B., Cha, C.-J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2017). Antimicrobial Resistance of Hypervirulent Klebsiella pneumoniae: Epidemiology, Hypervirulence-Associated Determinants, and Resistance Mechanisms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00483>
- Liébaña, J. (2002). *MICROBIOLOGÍA ORAL* (S. A. McGRAW-HILL - INTERAMERICANA

- DE ESPAÑA (ed.); 2a ed.). McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. A.
- Linzitto, O., & Tunes, M. (2019). Revision sobre bacterias gram negativas de importancia clinica. *Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)*, 13(1), 28–31.
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/90195/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- López, J., & Campuzano, G. (2013). El urocultivo: prueba ineludible para el diagnóstico específico de la infección del tracto urinario y el uso racional de los antibióticos. *REVISTA DE MEDICINA & LABORATORIO*, 19(5–6), 1–32.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2013/myl135-6b.pdf>
- López, P. (2021). Infección de vías urinarias en mujeres gestantes. *Revista Médica Sinergia*, 6(12), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.31434/rms.v6i12.745>
- Lozano, C. (2016). Examen general de orina: una prueba útil en niños. *Revista de la Facultad de Medicina*, 64(1), 137–147.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v64n1.50634>
- Lucana, M., & Huanca, R. (2014). ESTRUCTURA BACTERIANA. *Revista de Actualización Clínica Médica*, 49(1), 2589–2592.
http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/pdf/raci/v49/v49_a01.pdf
- Ma, X., Zhang, F., Bai, B., Lin, Z., Xu, G., Chen, Z., Sun, X., Zheng, J., Deng, Q., & Yu, Z. (2021). Linezolid Resistance in Enterococcus faecalis Associated With Urinary Tract Infections of Patients in a Tertiary Hospitals in China: Resistance Mechanisms, Virulence, and Risk Factors. *Frontiers in Public Health*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.570650>
- MacFaddin, J. (2004). *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica* (E. M. P. S.A. (ed.); 3a Edición). EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S. A.
- Martinez, M. (2021). *RESISTENCIA BACTERIANA EN INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS COMPLICADA DE PACIENTES USUARIOS DE SONDA URINARIA HOSPITALIZADOS EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA N°1 AGUASCALIENTES*. [UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES].
<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/1990/452404.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Microbiologics. (2022). *Instrucciones de uso cepas microbiológicas*. Microbiologics.
<https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=530&c=915960&h=fe0261b9ecb>

4cb8f6a9c&_xt=.pdf

- Ministerio de Salud del Salvador. (2013). *MANUAL DE TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRAS DE LABORATORIO*. Instituto Nacional de Salud.
http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/manual_toma_manejo_y_envio_muestras_laboratorio.pdf
- Ministerio de Salud Pública. (2019). *Diagnóstico y tratamiento de la infección vaginal en obstetricia. Guía de Práctica Clínica*. MSP. <http://somossalud.msp.gob.ec>
- Mundt, L., & Shanahan, K. (2011). *Análisis de orina y de los líquidos corporales* (S. A. de C. V. EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA (ed.); 2a ed.). EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S.A. de C.V.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2014). *Microbiología Médica* (S. L. Elsevier España (ed.); 7a ed.). Elsevier España, S.L.
- Nau, C., & Metzgar, M. (2019). *Microbiología* (W. K. H. (PAPEL) (ed.); 4. a.).
- Ortiz, M. I., Corona Olivera, E. J., Cariño Cortés, R., & Fernández Martínez, E. (2022). Infecciones del tracto urinario en mujeres embarazadas mexicanas: una revisión sistemática. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 10(20), 266–274.
<https://doi.org/10.29057/icsa.v10i20.8560>
- Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica* (S. A. EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA (ed.); 1ra Edició). EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S. A.
- Preevid. (2017). *¿Cuánto tiempo y en que condiciones puede almacenarse una muestra de orina para cultivo antes de enviarla a laboratorio?* Murcia, Salud.
<https://www.murciasalud.es/preevid/21558>
- Quirós, A., & Apolaya, M. (2018). Prevalencia de infección de la vía urinaria y perfil microbiológico en mujeres que finalizaron el embarazo en una clínica privada de Lima, Perú. *Revista de Ginecología y Obstetricia de México*, 86(10), 634–639.
<https://doi.org/https://doi.org/10.24245/gom.v86i10.2167>
- Ramirez, D., & Giron, M. (2022). Enterobacter Infections. En *StatPearls*.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32644722>
- Ríos-Muñiz, D., Cerna-Cortés, J. F., Morán-García, N., Meza-Segura, M., & Estrada-García, T. (2019). Escherichia coli enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y

- modelos múridos. *Gaceta de México*, 155(4), 410–416.
<https://doi.org/10.24875/GMM.19004716>
- Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2018). *MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO 2018*. BIOCEN.
<https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Revista de Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 1–2.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Sacsquispe, R., & Bailón, H. (2018). Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(2), 259–264. <https://doi.org/doi:10.17843/rpmesp.25Y.25v25i.3474>
- Salame, L., Contreras, B., Arias, S., Mondragón, M., Cataneo, J., Núñez, M., & Valente, B. (2018). Epidemiología de las bacteriemias por *Escherichia coli* en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Revista Anales Médicos*, 63(2), 91–95.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2018/bc182c.pdf>
- Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J., & Orta Mira, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127–134.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>
- Sanín-Ramírez, D., Calle-Meneses, C., Jaramillo-Mesa, C., Nieto-Restrepo, J. A., Marín-Pineda, D. M., & Campo-Campo, M. N. (2019). Prevalencia etiológica de infección del tracto urinario en gestantes sintomáticas, en un hospital de alta complejidad de Medellín, Colombia, 2013-2015. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 70(4), 243–252.
<https://doi.org/10.18597/rcog.3332>
- Saquipay Ortega, H. V., Ñauta Uzhca, M. E., Chacón Jarama, V. de los Á., Valencia Solorzano, M. A., & Alulema Asqui, J. O. (2021). Prevalencia y factores asociados a infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del hospital municipal del Niño y la Mujer de la ciudad de Cuenca de febrero a julio de 2015. *RECIMUNDO*, 5(3), 339–345.
[https://doi.org/10.26820/recimundo/5.\(3\).sep.2021.339-345](https://doi.org/10.26820/recimundo/5.(3).sep.2021.339-345)
- Troncoso, C., Pavez, M., Santos, A., Salazar, R., & Barrientos, L. (2017). Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia

Antibiótica. *International Journal of Morphology*, 35(4), 1214–1223.

<https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000401214>

Ullauri, C. (2020). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA*.

Ullauri, C., & Freire, S. (2019). Citrobacter freundii multirresistente como agente etiológico de infección de vías urinarias. *kasmera*, 47(1), 9–13.

<https://www.redalyc.org/journal/3730/373061540003/html/>

Viquez, M., Chacón, C., & Rivera, S. (2020). Infecciones del tracto urinario en mujeres

embarazadas. *Revista Medica Sinergia*, 5(5), 1–12. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i5.482>

Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of Klebsiella pneumoniae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6278.

<https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>

11. Anexos

Anexo 1. Oficio de pertinencia de trabajo de integración curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-00211-CLC-FSH-UNL
Loja, 02 de marzo de 2022

Señor
Juan Diego Ludeña García.
**ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA
SALUD HUMANA-UNL.**
Ciudad. –

De mi consideración:

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lic. Iliana Alicia Delgado, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respeto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS EN INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS DE PACIENTES EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD MOTUPE"**, de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art. 225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines legales pertinentes.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:
SANDRA
ELYZABETH
FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta,
**DIRECTORA DE LA CARRERA DE
LABORATORIO CLÍNICO-FSH. UNL.**

Referencia: Correo electrónico
Anexo: Archivo Secretaría de la Carrera
Elaborado por: María del C. Salazar L.

Anexo 2. Oficio de designación de la directora del trabajo de integración curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0367-CLC-FSH-UNL
Loja, 27 de abril de 2022

Licenciada

Iliana Alicia Delgado

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA-UNL.

Ciudad. –

De mi consideración:

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Directora del trabajo de Integración Curricular, titulado **“IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS EN INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS DE PACIENTES EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD MOTUPE”**, de autoría del Sr. **JUAN DIEGO LUDEÑA GARCIA**, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Aprovecho la oportunidad para expresarle mi agradecimiento por su colaboración

Atentamente,

Bq. Luisa Ivonne Celi Carrión,
DIRECTORA (E) DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO-FSH. UNL.

Referencia: Correo electrónico
Anexo: Archivo Secretaría de la Carrera
Elaborado por: María del C. Salazar L.

Anexo 3. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

CÓDIGO

Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Fecha:

Datos del Paciente:

Número de cédula:

Semanas de gestación:

En el marco del proyecto de vinculación: “**Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe**” bajo la responsabilidad de: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana.

Para ejecución del mismo, se necesita la recolección de muestras de orina y fluido vaginal de las pacientes embarazadas que acuden a sus atenciones prenatales al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Los participantes del proyecto, son quienes tomarán la muestra con las respectivas indicaciones para una correcta toma de muestra y de esa manera poder realizar correctamente el análisis, mismo que se llevará a cabo en los laboratorios de docencia de la Facultad de Salud Humana.

Considerando que la muestra de orina será recolectada por el paciente, debe tener en cuenta ciertas indicaciones: aseo previo antes de la toma de muestra, deberá recoger la primera micción de la mañana, segundo chorro con toda la asepsia posible.

Toda la información recolectada será recopilada y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad de las pacientes embarazadas.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna; en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente que, he facilitado la información completa hasta mi conocimiento sobre mi estado de salud; que he sido informado de manera clara y sencilla por parte de la investigadora, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se ha propuesto; que esta claro, que mi

participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de orina y fluido vaginal para que sea procesada y no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.

Declaro que he sido informada de las ventajas e inconvenientes de mi participación en el proyecto. Que he escuchado, leído y comprendido toda la información recibida y se me ha dado la oportunidad de preguntar lo que he necesitado sobre el proyecto. Además, al ser un proyecto coordinado por: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana, por lo que me han garantizado la total confidencialidad relacionada a mi identidad como a cualquier información relacionada a mi persona, a la que tengan acceso para el desarrollo de este proyecto.

Que bajo ningún aspecto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto.

Que puedo retirarme del proyecto en caso de considerar que el mismo ya no es de mi interés o conveniencia.

Nombre, firma y número de cédula del paciente.

Nombre, firma y número de cédula del testigo.

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORME

Fecha:

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, NO autorizo y se niego a que se me realice el procedimiento propuesto, responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y a la intervención sugerida.


REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

De forma libre y voluntaria, revoco el consentimiento realizado en fecha y manifiesto expresamente mi deseo de no continuar con el procedimiento médico que doy por finalizado en esta fecha: Libero de responsabilidades futuras de cualquier índole al establecimiento de salud y al profesional sanitario que me atiende.

Nombre, firma y número de cédula del paciente.

Nombre, firma y número de cédula del testigo.

Anexo 4. Tabla de registro de datos


 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología</p>	<p>Universidad Nacional de Loja</p> <p>Tabla de registro de datos</p>	<p>ANEXO 4</p>
		<p>N.º páginas: 1</p>

“Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe”

FECHA	Nro.	NOMBRES COMPLETOS	EDAD	CÉDULA DE IDENTIDAD	TEFLÉFONO	EDAD GESTACIONAL	OBSERVACIONES

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 5. Protocolo para toma de muestra de orina

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología	Universidad Nacional de Loja	TOMA DE MUESTRA: ORINA	ANEXO 5
			N.º páginas: 2

PROTOCOLO PARA TOMA DE MUESTRA DE ORINA

Objetivo: Describir el procedimiento para la obtención de una muestra de orina significativa así como evaluar los diversos elementos bajo el microscopio a fin de emitir un resultado veraz y confiable con posterior diagnóstico.

Alcance: Generar un procedimiento adecuado que le permita al paciente realizar una correcta toma del espécimen biológico.

Definiciones: La orina es un líquido renal que ofrece excelente información acerca de la función renal y de los equilibrios ácido-base e hidroelectrolítico así como también puede aportar datos sobre alteraciones metabólicas y de patologías renales y extra - renales (Lozano, 2016).

El examen general de orina (EGO) se compone de varias pruebas que permiten identificar las distintas sustancias que se eliminan mediante el riñón; el resultado es de mucha importancia en el estudio inicial de varias enfermedades que son de origen urinario o sistémico, por lo cual se hace necesario que sus datos sean interpretados de manera correcta ya que pueden ofrecer una información tan cercana como la que entrega una biopsia renal. (Lozano, 2016)

Responsable:

Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Materiales de aseo genital.
- Contenedor estéril para toma de muestra.
- Guantes desechables.
- Etiquetas para identificación de frasco estéril.

Proceso:

Para realizar una obtención de resultado adecuado en cuanto a lo que refiere a uroanálisis, es necesario tener en cuenta las siguientes pautas de toma de muestra:

- Lavar el área perineal como genital del paciente, utilizando agua y jabón momentos previos a la toma de muestra, sin utilizar antisépticos.
- Utilizar un frasco recolector de orina, estéril, sellado y sin uso.
- Tomar la muestra de orina a partir del chorro medio, previamente descartando la primera porción de orina de la micción. Tener en cuenta que la orina recolectada no debe ser tocada por objetos o los dedos del paciente.
- Recolectar un volumen adecuado de la muestra para su posterior análisis, teniendo como cantidad adecuada un volumen de 10ml.
- Evitar que la muestra recolectada rebose el frasco, puesto que se expone la misma a contaminación.
- Sellar de manera inmediata el frasco, una vez que se ha recolectado la muestra de orina, sin olvidar el rotulado adecuado, en donde se indicara nombre de paciente, número de historia clínica, fecha y hora de recolección.
- Conservar la muestra en un ambiente seguro y fresco, evitando la exposición solar y agitación.
- Llevar al laboratorio en un tiempo prudente de entre 30 minutos hasta un máximo de 2 horas, para su posterior análisis. De no realizarse en este tiempo se deberá refrigerar la muestra a 4°C con un lapso máximo de 24 horas (Lozano, 2016).

Bibliografía.

Lozano, C. (2016). Examen general de orina: una prueba útil en niños. *Revista de la Facultad de Medicina*, 64 (1), 137-147.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v64n1.50634>

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 6. Protocolo para transporte de muestras de orina al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja</p>	<p>Universidad Nacional de Loja</p> <p>TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRA DE ORINA</p>	<p>ANEXO 6</p>
<p>ÁREA: Laboratorio de microbiología</p>		<p>N.º páginas: 3</p>

PROTOCOLO PARA CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRA DE ORINA

Objetivo: Describir el procedimiento adecuado para el transporte de una muestra de orina, con el fin de conservarla en óptimas condiciones para su procesamiento posterior.

Alcance: Brindar información al paciente para que en caso de que la muestra se recolecte en casa, transportarla de manera segura y dentro del tiempo reglamentario.

Definiciones: A la hora de interpretar un análisis de orina deben tenerse en cuenta las condiciones en las que la muestra fue recogida, conservada y transportada, ya que pueden influir en la validez tanto del cultivo como de los parámetros del perfil urinario (tira reactiva o examen microscópico). Interesa, pues, establecer las recomendaciones de conservación y transporte de las muestras de orina para cultivo. (Preevid, 2017)

Para que todos los resultados que se proporcionan sean clínicamente relevantes, significativos y con precisión, se requiere que las muestras sean seleccionadas de manera correcta a la vez que transportadas, por cuanto esto permite optimizar el análisis y su interpretación. Siempre se debe considerar el material biológico en una cantidad suficiente de manera que represente mejor el proceso infeccioso del cual se desea conocer el agente etiológico. Por lo tanto el utilizar recipientes adecuados en volumen y esterilidad a la vez que presenten cerradura a prueba de fugas (Sánchez-Romero et al., 2019)

Responsable:

Juan Diego Ludeña G.

Descripción del Procedimiento:

Recursos Materiales:

- Frasco Estéril

- Cooler
- Tubos de ensayos estériles con tapón
- Refrigerador

Indicaciones previas para la correcta conservación y transporte de la muestra de orina:

En el caso que deba transportar muestras al laboratorio, éstas deben ser enviadas en un contenedor hermético con tapadera de rosca. Si requiere cadena de frío adicionar pingüinos o bolsas de gelatina congelada. (Ministerio de Salud del Salvador, 2013)

El transporte a la vez se debe gestionar por el propio hospital o servicio de salud autorizado. (Sánchez-Romero et al., 2019)

Información al paciente: Realizar las debidas indicaciones del procedimiento para el transporte y conservación de la muestra de orina.

Proceso:

- Se recomienda no demorar más de 4 horas el procesamiento de la orina para no afectar al crecimiento bacteriano.
- Cuando no sea posible cultivar la orina dentro de las 4 horas siguientes, se recomienda que la orina que vaya a ser usada para detectar bacteriuria sea refrigerada inmediatamente tras su recogida a una temperatura de entre 4 a 6 grados
- Cuando no sea posible la refrigeración y la orina vaya a ser procesada entre las 4 y 24 horas de su recogida, pueden emplearse conservantes, ya que demoras mayores pueden afectar al crecimiento bacteriano.
- En orinas con conservantes químicos se recomienda no considerar los resultados de algunos parámetros del perfil urinario (nitritos y glucosa) porque su validez podría estar comprometida.
- Si se van a usar conservantes químicos, debe garantizarse que exista el volumen mínimo de orina recomendado por el fabricante (Preevid, 2017)
- Para el transporte de orina se deberá utilizar el sistema de envasado triple, como el recipiente primario que es el que se presenta a prueba de filtraciones, a este se le debe añadir material absorbente de fluido en caso de fuga; luego se debe colocar en un recipiente secundario que sea resistente y el recipiente exterior que sea de material amortiguador que sea resistente a daños físicos mientras se dé el transporte (Sánchez-Romero et al., 2019).

Bibliografía.

Ministerio de Salud del Salvador. (2013). *MANUAL DE TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRAS DE LABORATORIO*. Instituto Nacional de Salud.


http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/manual_toma_manejo_y_envio_muestras_laboratorio.pdf

Preevid. (2017). *¿Cuánto tiempo y en que condiciones puede almacenarse una muestra de orina para cultivo antes de enviarla a laboratorio?* Murcia, Salud.

<https://www.murciasalud.es/preevid/21558>

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 7. Protocolo de Control de Calidad con cepas ATCC de *E. coli* y *S. aureus*

 <p>1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja</p>	<p>Universidad Nacional de Loja</p> <p>Protocolo de Control de calidad con cepas ATCC de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>.</p>	<p>ANEXO 7</p>
<p>ÁREA: Laboratorio de microbiología</p>		<p>N.º páginas: 8</p>

PROTOCOLO DE CONTROL DE CALIDAD DE EQUIPOS, TINCIÓN DE GRAM Y MEDIOS DE CULTIVO, MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE CEPAS ATCC

Objetivo: Dar a conocer el procedimiento para la realización de control de calidad interno en los diferentes medios de cultivo, tinción de Gram y equipos utilizados durante la realización de la presente investigación.

Alcance: Brindar información adecuada a estudiantes y docentes sobre la importancia de realizar controles de calidad a medios de cultivo que se utilizan en el área de microbiología.

Definiciones: Se define al control de calidad como el método diseñado y utilizado dentro de un laboratorio, cuyo fin es reducir, detectar y corregir deficiencias analíticas internas, así mismo abarca diversos procedimientos que indican el correcto funcionamiento de equipos, medios de cultivo, pruebas bioquímicas, discos de antibióticos y reactivos afines, con el fin de minimizar errores sistemáticos que puedan presentarse por parte de equipos, personal, materiales e instrumentos (García-Alegría et al., 2017).

Responsable:

Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Equipo de bioseguridad (Gorro, guantes, mascarilla, traje protector interno).
- Mechero.
- Lápiz graso.
- Termómetro.
- Fósforo.

- Gradillas.
- Pinzas metálicas.
- Placas porta y cubre objetos.
- Cinta testigo.
- Hisopos estériles.
- Asas de platino calibradas.
- Alcohol concentración 70%.
- Suero fisiológico.
- Incubadora.
- Refrigerador.
- Cabinas de bioseguridad.
- Autoclave.
- Cepas de control ATCC: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Colorantes para tinción de Gram: Cristal violeta, Lugol, Alcohol Cetona, Safranina.
- Reactivo de Kovacs.
- Agares: Sangre, MacConkey, EMB, Citrato, Urea, SIM, Lisina, TSI.

Procedimiento para control de calidad interno de equipos.

- Los diversos equipos del laboratorio de microbiología que se utilizan como cabina de bioseguridad, estufa, incubadora se les realiza limpieza externa e interna con alcohol al 70% y toallas desechables con el fin de mantener la asepsia de los mismos.
- En lo que concierne a autoclave se coloca el agua al nivel requerido de manera que cubra las resistencias del autoclave, para posterior utiliza a presión de una atmosfera y 121°C.
- Referente a utilización de centrifugas se realiza la observación de en el caso de centrifuga que antes de utilizar se encuentre a revoluciones de 400 a 450 g y se encuentre en estado optimo, que se encuentre desconectada antes de usar y dejando desconectada y limpia la misma luego de utilizar.

- En cuanto a los microscopios se realiza la limpieza de los objetivos con alcohol al 70%, se observa que la luz se encuentre apagada, la platina abajo, colocada en el menor aumento, tapada con su respectivo cobertor y desconectada de la corriente.
- En lo que respecta a equipos de cultivo y almacenamiento como lo es refrigerador e incubadora, se les controla la temperatura diariamente durante la realización de la parte analítica.

Fotografías de control de calidad en los equipos.

A.

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICA DE FISI CÁMERA DE LABORATORIO CLÍNICO LOJA-ECUADOR Calle Manuel Montenegro Telf: 072 57 13 79		LOS FICHAS Versión: 1																																																																																																																																															
REGISTRO DE TEMPERATURA DEL CONGELADOR																																																																																																																																																	
MES: JUNIO 2022 RANGO (E-S):																																																																																																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">DÍA</th> <th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th><th>13</th><th>14</th><th>15</th><th>16</th><th>17</th><th>18</th><th>19</th><th>20</th><th>21</th><th>22</th><th>23</th><th>24</th><th>25</th><th>26</th><th>27</th><th>28</th><th>29</th><th>30</th><th>31</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MAÑANA</td> <td>HORA</td> <td>5:30</td><td>6:00</td><td>6:30</td><td>7:00</td><td>7:30</td><td>8:00</td><td>8:30</td><td>9:00</td><td>9:30</td><td>10:00</td><td>10:30</td><td>11:00</td><td>11:30</td><td>12:00</td><td>12:30</td><td>13:00</td><td>13:30</td><td>14:00</td><td>14:30</td><td>15:00</td><td>15:30</td><td>16:00</td><td>16:30</td><td>17:00</td><td>17:30</td><td>18:00</td><td>18:30</td><td>19:00</td><td>19:30</td><td>20:00</td><td>20:30</td><td>21:00</td><td>21:30</td><td>22:00</td><td>22:30</td><td>23:00</td><td>23:30</td><td>24:00</td><td>24:30</td><td>25:00</td><td>25:30</td><td>26:00</td><td>26:30</td><td>27:00</td><td>27:30</td><td>28:00</td><td>28:30</td><td>29:00</td><td>29:30</td><td>30:00</td><td>30:30</td><td>31:00</td><td>31:30</td> </tr> <tr> <td>TARDE</td> <td>HORA</td> <td>5:30</td><td>6:00</td><td>6:30</td><td>7:00</td><td>7:30</td><td>8:00</td><td>8:30</td><td>9:00</td><td>9:30</td><td>10:00</td><td>10:30</td><td>11:00</td><td>11:30</td><td>12:00</td><td>12:30</td><td>13:00</td><td>13:30</td><td>14:00</td><td>14:30</td><td>15:00</td><td>15:30</td><td>16:00</td><td>16:30</td><td>17:00</td><td>17:30</td><td>18:00</td><td>18:30</td><td>19:00</td><td>19:30</td><td>20:00</td><td>20:30</td><td>21:00</td><td>21:30</td><td>22:00</td><td>22:30</td><td>23:00</td><td>23:30</td><td>24:00</td><td>24:30</td><td>25:00</td><td>25:30</td><td>26:00</td><td>26:30</td><td>27:00</td><td>27:30</td><td>28:00</td><td>28:30</td><td>29:00</td><td>29:30</td><td>30:00</td><td>30:30</td><td>31:00</td><td>31:30</td> </tr> </tbody> </table>			DÍA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	MAÑANA	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30	TARDE	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30
DÍA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31																																																																																																																	
MAÑANA	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30																																																																																											
TARDE	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30																																																																																											
RESPONSABLE:	LEDA LUJANA DELGADO MjSc	FIRMA: 																																																																																																																																															
ELABORADO POR:	JUAN DIEGO LUJANA	FIRMA: 																																																																																																																																															
INSTRUCCIONES • Se registra la temperatura en el día correspondiente • Si se encuentra la temperatura mayor a 4°C registrar con color ROJO en forma inmediata a su levantamiento • Si se encuentra temperatura mayor a 7°C registrar con color VERDE en forma inmediata a su levantamiento y se debe hacer de la temperatura decidida • Cuando no exista ningún registro se debe de registrar.																																																																																																																																																	

B.

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICA DE FISI CÁMERA DE LABORATORIO CLÍNICO LOJA-ECUADOR Calle Manuel Montenegro Telf: 072 57 13 79		101-PMF-02 Versión: 2																																																																																																																																															
REGISTRO DE TEMPERATURA DE LA INCUBADORA																																																																																																																																																	
MES: JUNIO 2022 RANGO (E-S + 1):																																																																																																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">DÍA</th> <th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th><th>13</th><th>14</th><th>15</th><th>16</th><th>17</th><th>18</th><th>19</th><th>20</th><th>21</th><th>22</th><th>23</th><th>24</th><th>25</th><th>26</th><th>27</th><th>28</th><th>29</th><th>30</th><th>31</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MAÑANA</td> <td>HORA</td> <td>5:30</td><td>6:00</td><td>6:30</td><td>7:00</td><td>7:30</td><td>8:00</td><td>8:30</td><td>9:00</td><td>9:30</td><td>10:00</td><td>10:30</td><td>11:00</td><td>11:30</td><td>12:00</td><td>12:30</td><td>13:00</td><td>13:30</td><td>14:00</td><td>14:30</td><td>15:00</td><td>15:30</td><td>16:00</td><td>16:30</td><td>17:00</td><td>17:30</td><td>18:00</td><td>18:30</td><td>19:00</td><td>19:30</td><td>20:00</td><td>20:30</td><td>21:00</td><td>21:30</td><td>22:00</td><td>22:30</td><td>23:00</td><td>23:30</td><td>24:00</td><td>24:30</td><td>25:00</td><td>25:30</td><td>26:00</td><td>26:30</td><td>27:00</td><td>27:30</td><td>28:00</td><td>28:30</td><td>29:00</td><td>29:30</td><td>30:00</td><td>30:30</td><td>31:00</td><td>31:30</td> </tr> <tr> <td>TARDE</td> <td>HORA</td> <td>5:30</td><td>6:00</td><td>6:30</td><td>7:00</td><td>7:30</td><td>8:00</td><td>8:30</td><td>9:00</td><td>9:30</td><td>10:00</td><td>10:30</td><td>11:00</td><td>11:30</td><td>12:00</td><td>12:30</td><td>13:00</td><td>13:30</td><td>14:00</td><td>14:30</td><td>15:00</td><td>15:30</td><td>16:00</td><td>16:30</td><td>17:00</td><td>17:30</td><td>18:00</td><td>18:30</td><td>19:00</td><td>19:30</td><td>20:00</td><td>20:30</td><td>21:00</td><td>21:30</td><td>22:00</td><td>22:30</td><td>23:00</td><td>23:30</td><td>24:00</td><td>24:30</td><td>25:00</td><td>25:30</td><td>26:00</td><td>26:30</td><td>27:00</td><td>27:30</td><td>28:00</td><td>28:30</td><td>29:00</td><td>29:30</td><td>30:00</td><td>30:30</td><td>31:00</td><td>31:30</td> </tr> </tbody> </table>			DÍA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	MAÑANA	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30	TARDE	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30
DÍA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31																																																																																																																	
MAÑANA	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30																																																																																											
TARDE	HORA	5:30	6:00	6:30	7:00	7:30	8:00	8:30	9:00	9:30	10:00	10:30	11:00	11:30	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00	19:30	20:00	20:30	21:00	21:30	22:00	22:30	23:00	23:30	24:00	24:30	25:00	25:30	26:00	26:30	27:00	27:30	28:00	28:30	29:00	29:30	30:00	30:30	31:00	31:30																																																																																											
RESPONSABLE:	LEDA LUJANA DELGADO MjSc	FIRMA: 																																																																																																																																															
ELABORADO POR:	JUAN DIEGO LUJANA GARCIA	FIRMA: 																																																																																																																																															



Procedimiento para el control de calidad interno de materiales.

- Respecto a los materiales como el asa metálica para pruebas bioquímicas se verifica que se encuentre firme y recta; mientras que al asa redonde se le verifica que no presente daños, restos de material y se encuentre libre de abolladuras.

Fotografías de Asas calibradas.



Procedimiento para el control de calidad interno con las cepas ATCC

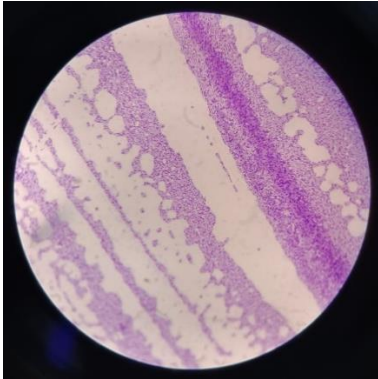
Tinción de Gram.

Para la realización de este procedimiento de manera estandarizada referente a los tiempos adecuados para la tinción óptima, se realizaron placas con los crecimientos de las cepas control para lo cual:

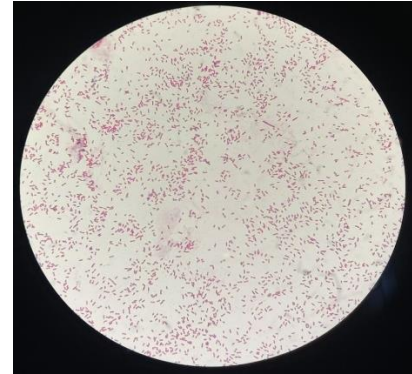
- a. Se rotula 2 placas portaobjetos cada una con los nombres respectivos de cada cepa control ATCC, tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, como para *Escherichia coli* ATCC 25922
- b. Se fija las placas con ayuda de un mechero de Bunsen.
- c. Seguidamente se procede a colocar el primer colorante que es cristal violeta a la primera placa durante un lapso de 1 minuto.
- d. Cumplido el tiempo se lava con agua hasta eliminar todo el colorante.
- e. Luego colocar Lugol que es mordiente del primer colorante y dejar durante 1 minuto.
- f. Lavar con agua hasta eliminar el colorante en su totalidad.
- g. Seguido al paso anterior proceder a colocar el alcohol cetona que es un decolorante que se encuentra en una concentración al 30%, por un lapso de 20 segundos.
- h. Volver a lavar con agua en una cantidad moderada.
- i. Colocar el ultimo colorante que es la safranina y esperar un tiempo de 20 segundos.
- j. Lavar la placa con agua para luego colocar a secar a temperatura ambiente.
- k. Todo el proceso se repitió con la segunda placa que contenía la segunda cepa control ATCC de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- l. Finalmente una vez secadas las placas se procede a observar las mismas bajo el microscopio enfocando primeramente con el objetivo de 40x, para luego pasar al objetivo 100x en donde se adiciona una gota de aceite de inmersión, en donde se va a observar en la primera placa bacterias gram positivas con morfología de cocos en racimos de color morado correspondiente a *Staphylococcus aureus*; mientras que en la segunda placa se debe observar bacilos gram negativos correspondiente en este caso a *Escherichia coli*.

Cepas de control de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A) y *Escherichia coli* ATCC 25922 (B), observadas bajo el microscopio con aumento 100x.

A.



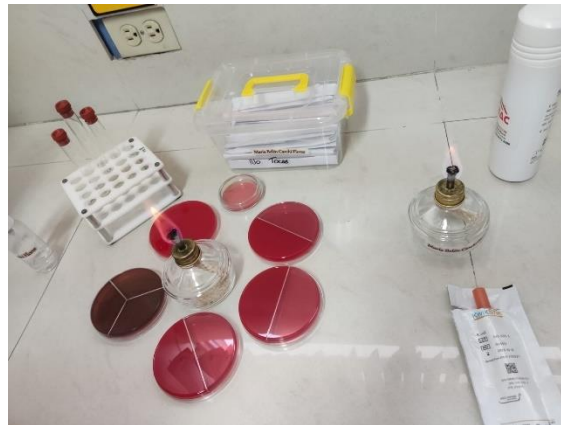
B.



Procedimiento para control de calidad interno de medios de cultivo.

Respecto al presente control de calidad y con el objetivo de garantizar el correcto funcionamiento de los diferentes medios de cultivo se debe realizar procesos de: esterilización del material de vidrio, esterilización de agares en autoclave, almacenamiento y temperatura adecuada de los agares en el refrigerador cuya temperatura se lleva registro de control.

Fotografías de agares Sangre/MacConkey y EMB.



Procedimiento y siembra de las cepas control *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en medios utilizados en la investigación.

Adicionalmente se lleva a cabo el control de calidad de los medios de cultivo mediante la utilización de cepas de control ATCC como lo son *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siguiendo los diferentes procedimientos indicados en cada uno de sus insertos.

Descripción del producto.

Para el control de calidad se utiliza cepas ATCC KWIK – STIK; cada unidad dispone de un gránulo liofilizado de un microorganismo determinado, un hisopo de inoculación y una ampolla de líquido hidratante. Cada dispositivo se encuentra sellado en una bolsa laminada misma que dispone de material desecante con el propósito de evitar humedad acumulada. Los microorganismos de KWIK – STIK se encuentra a 3 pasos del cultivo de referencia y si necesitan ser recuperados se garantiza procesando los requisitos para la incubación y medios recomendados.

Procedimiento para los microorganismos.

- a. Dejar que la bosa sin aperturar, se adapte a la temperatura ambiente. Seguido rasgar por la muesca y extraer la unidad KWIK – STIK.
- b. Retirar la porción de la etiqueta y colocarla en la placa de cultivo a utilizar principalmente.
- c. Sobre el borde de la mesa de trabajo agrietar la ampolla en la parte superior de la cepa de control KWIK-STIK para poder liberar el líquido hidratante.
- d. Mantener sobre en posición vertical y golpear levemente sobre una superficie dura para que exista el fluido del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad en donde se encuentra el gránulo.
- e. Apretar la parte inferior para exista la disolución del gránulo en el líquido hasta conseguir una suspensión homogénea.
- f. De inmediato saturar el hisopo con el material hidratado y transfíralo al medio agar correspondiente.
- g. Inocular la placa de cultivo girando suavemente en un tercio de la placa.
- h. Utilizando una asa estéril realizar el estriado correspondiente, para facilitar el aislamiento de las colonias.
- i. Incubar las placas invertidas a temperatura apropiada. (Microbiologics, 2022)

Fotografías del procedimiento

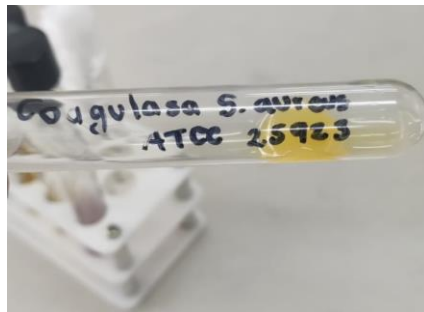




Crecimiento en agar Sangre/MacConkey de cepa de control de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



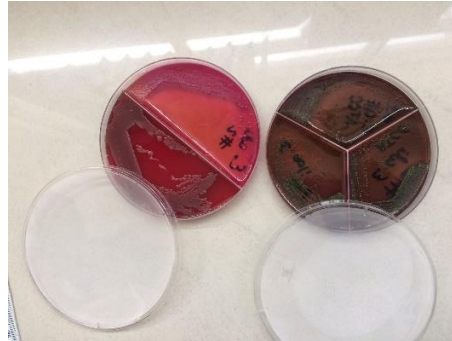
Prueba de coagulasa positiva de cepa de control de *S. aureus* ATCC 25923



Prueba de manitol de cepa de control de *S. aureus* ATCC 25923



Crecimiento en agar Sangre/MacConkey; EMB



Pruebas bioquímicas realizadas a Cepa de Control de *Escherichia coli* ATCC 25922



SIM: Indol (+), Motilidad variable, H₂S (-); Citrato (-); Urea (-); Lisina (+); TSI: (A/A); Gas (+).


Bibliografía.

Microbiologics. (2022). *INSTRUCCIONES DE USO*.

https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=530&c=915960&h=fe0261b9ecb4cb8f6a9c&_xt=.pd

ELABORADO	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
POR:		
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 8. Protocolo para el Examen General de Orina (EMO)

 <p>1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología</p>	<p>Universidad Nacional de Loja</p>	<p>EXAMEN GENERAL DE ORINA (EMO)</p>	<p>ANEXO 8</p>
			<p>N.º páginas: 3</p>

PROTOCOLO PARA EXAMEN GENERAL DE ORINA

Objetivo: Describir el procedimiento para la realización de un examen general de orina, en los diferentes aspectos físico, químico y microscópico.

Alcance: Brindar información sobre los diferentes procesos para realizar un correcto Examen General de Orina (EGO), de manera que se pueda identificar la presencia o no de bacteriuria.

Definiciones: El EGO o examen general de orina comprende un examen de rutina, de bajo costo, rápido, de rutina y de fácil acceso para la población. Es importante puesto que aporta en el diagnóstico de enfermedades como la diabetes, enfermedades renales, o infecciones del tracto urinario; a la vez permite realizar seguimientos terapéuticos. El EGO se encuentra compuesto de examen físico, químico y microscópico. EL examen físico - químico evalúa diversas propiedades organolépticas como el color y aspecto.

El color normalmente de varios tonos amarillos varia desde incoloro a ámbar, verde, rojo, naranja, marrón, azul e incluso negro, dichas variaciones se pueden deber a la presencia de procesos patológicos alimentos o fármacos o anormalidades metabólicas (Brunzel, 2014).

La claridad describe la turbidez de la orina que es causada por partículas que se encuentran en suspensión y que tienden a dispersar la luz (Mundt & Shanahan, 2011).

En la parte química mediante tiras reactivas se examina pH, densidad, glucosa, proteínas, bilirrubinas, urobilinógeno, hemoglobina, nitritos y cuerpos cetónicos En cuanto a la parte microscópica en donde se utiliza el sedimento urinario, se evalúa la presencia o ausencia de bacterias, células, cristales, leucocitos, eritrocitos, y moco (Arispe et al., 2019).

Responsable: Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Tubos de ensayo estériles.
- Tiras reactivas
- Centrífuga
- Placas portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microscopio

Examen físico – químico de orina.

Para la realización del examen físico químico se debe primero:

- Colocar el número de muestra asignada en un tubo estéril.
- Preparar una alícuota de la muestra en el tubo.
- Observar visualmente color y claridad o turbidez.
- Registrar en la hoja de datos de EMO (Anexo.)
- Colocar la tirilla de orina durante un tiempo de 3 segundos, retirar y posterior con la ayuda de una toalla absorbente eliminar el exceso de muestra de orina captada en la tirilla.
- Esperar el tiempo reglamentario según las indicaciones del frasco de tirillas reactivas.
- Realizar la lectura de la tirilla y anotar los datos obtenidos.

Examen microscópico de orina.

- Colocar el tubo de orina en la centrífuga igualando frente con frente la muestra de orina con otro tubo llenado a la misma cantidad del primero y cerrar la tapa de la centrífuga.
- Realizar la centrifugación de 1750 rpm a 1800 rpm durante un tiempo de 5 minutos.
- Transcurrido el tiempo, realizar la decantación del sobrenadante de la muestra de tal manera que solo quede el sedimento de la muestra.
- Colocar una porción en una placa porta objetos, previamente rotulada con el número de la muestra y colocar el cubreobjetos.
- Realizar la observación y reporte bajo el microscopio, primeramente enfocando con lente de 10x, para luego pasar al lente de 40x.

Fotografía de modelo de registro de datos de EMO.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTAD DE SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Calle Manuel Montero y Carlos Román Loja		HOJA DE TRABAJO DE BACTERIOLOGÍA REGISTRO DE MUESTRAS DE ORINA										CÓDIGO LCL-03-								
DATOS GENERALES				EXAMEN FÍSICOQUÍMICO										EXAMEN MICROSCÓPICO						
N	Nombre	# Cédula	Edad	Color	Aspecto	pH	Densidad	Leucocitos	Nitritos	Glucosa	Cuerpos cetónicos	Sangre	Bilirrubina	Proteínas	Urobilínógeno	Leucocitos	Parasitos	C. Gram	Bacterias	Muco
3	Larrea Eliza de la Cruz Barral	10041700	25 años	Amarelo	Barro	5	1.025	+	Positivo	-	-	-	-	-	-	10-12/c	0-1/c	C. Gram Bacterias	+++	++
4	Chilong Ma. Rudy Alvarez Alfonso	10041700	27 años	Amarelo	Turbio	5	1.025	-	Positivo	-	-	-	-	-	-	2-10/c	2-4/c	C. Gram positivos	+++	++
6	Maria Valeria de la Cruz Valverde	10041700	17 años	Amarelo	L. Turbio	5	1.025	+	-	-	-	-	-	-	-	4-6/c	0-1/c	multibacilos	+	-
7	Maria Gabriela de la Cruz Luisa	10041700	28 años	Amarelo	Barro	6	1.025	-	-	-	-	-	-	-	-	6-20/c	0-1/c	C. Gram multibacilos	+++	-
								18 - 05 - 2022												
1	Maria Victoria de la Cruz Luisa	10041700	26 años	Amarelo	L. Turbio	7.5	1.020	-	-	-	-	-	-	-	-	2-4/c	0-1/c	C. Gram multibacilos	+	++
6	Maria Rosa de la Cruz Luisa	10041700	28 años	Amarelo	Claro	6	1.020	-	-	-	-	-	-	-	-	1-2/c	1-2/c	C. Gram positivos	+	-
								24 - 05 - 2022												
2	Maria Victoria de la Cruz Luisa	10041700	26 años	Amarelo	Claro	5	1.025	-	-	-	-	-	-	-	-	1-2/c	0-1/c	C. Gram positivos	+	+
4	Maria Victoria de la Cruz Luisa	10041700	24 años	Amarelo	Claro	6	1.020	-	-	-	-	-	-	-	-	1-2/c	0-1/c	C. Gram positivos	++	++
9	Maria Victoria de la Cruz Luisa	10041700	24 años	Amarelo	Turbio	8	1.015	10 ⁺	positivos	-	-	5-10	-	-	-	24-26/c	0-1/c	C. Gram positivos	+++	+
								25 - 05 - 2022												
4	Maria Victoria de la Cruz Luisa	10041700	23 años	Amarelo	L. Turbio	6.4	1.010	-	-	-	-	Traces	-	-	-	0-1/c	2-4/c	C. Gram positivos	+	+

Bibliografía.

- Arispe, M., Callizaya, L., Yana, L., Mendoza, M., Mixto, J., Valdez, B., Mendoza, E., Margariños, W., y Torrico, B. (2019). Importancia del examen general de orina, en el diagnóstico preliminar de patologías de vías urinarias renales y sistémicas, en mujeres aparentemente sanas. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas*, 7 (1), 93 – 101. http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v7n1/v7n1_a09.pdf
- Brunzel, N. (2014). *Fundamentos del Análisis de Orina y Fluidos Corporales*. (3ª edición). Editorial AMOLCA
- Mundt, L., y Shanahan, K. (2011). *Análisis de orina y de los líquidos corporales* (2ª edición). Editorial Médica Panamericana, S.A. de C.V.

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 9. Protocolo para realización de urocultivo

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de Microbiología	Universidad Nacional de Loja	Urocultivo	ANEXO 9
			N.º páginas: 3

PROTOCOLO PARA UROCULTIVO

MEDIOS DE CULTIVO A UTILIZAR: Agar Mac Conkey, Agar Sangre, Agar EMB

Objetivo: Describir el procedimiento o protocolo para la realización de urocultivo a partir de una muestra de orina, para así observar si se da el crecimiento de agentes patológicos como las enterobacterias.

Alcance: Proveer información de manera práctica, de cómo realizar un correcto urocultivo que permita conocer de manera veraz el agente patógeno que puede causar patologías al tracto urinario.

Definiciones: Cultivar una muestra de orina es un patrón de referencia para diversas pruebas relacionadas con un diagnóstico de la infección del tracto urinario; es así que demostrar la presencia de una cantidad determinada y significativa de bacterias en la orina, conocido como bacteriuria, va a permitir identificar la afección y que agente patógeno lo causa, con lo cual se ayudará para el diagnóstico y tratamiento adecuado (López & Campuzano, 2013).

Responsable: Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE CULTIVO.

- **Calcular la pesada de acuerdo a la receta de cada medio de cultivo.**
- Conectar y encender la balanza.
- Tarar a 0 gramos.
- Pesar la cantidad adecuada de agar según lo que se requiera.
- Disolver en agua destilada de acuerdo a la cantidad que se requiera preparar.
- Tapar la boca del matraz con corchos elaborados de gasa y algodón.
- Homogenizar suavemente.
- Calentar en la cocineta hasta hervir y que la disolución se torne cristalina.

- Autoclavar a 121°C por 60 minutos y 15 libras de presión o lo que equivale a 1 atmósfera de presión.
- Esperar un tiempo determinado de enfriamiento de los agares sobre superficies que no ocasionen un cambio brusco.
- Limpiar con cloro la superficie del sitio donde se dispensarán los agares, y luego colocar las diferentes cajas petri en donde se dispensarán los agares.
- Dispensar los agares en presencia de una llama de mechero y esperar a que se solidifiquen.
- Una vez solidificados, guardar los agares en bolsas estériles y sellar con cinta en donde se deberá especificar la fecha de elaboración y guardar en refrigerador a temperatura de 4 a 8°C Utilizarlos hasta 7 días posteriores a su preparación (Rodríguez y Zhurbenko, 2018).

TÉCNICA DE SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS.

Para realizar un cultivo se puede realizar siembra por técnica de agotamiento o por técnica de Kass.

Técnica de agotamiento para urocultivo.

- Tomar el asa e introducirla al fuego para que se esterilice, dejar enfriar unos segundos y tomar una pequeña muestra que se quiere sembrar.
- Con el asa impregnada de la muestra se realiza un pequeño inóculo en el borde, desde donde partirá la primera estriación.
- A partir de la primera estriación se realiza la segunda estriación y finalmente de la esquina de una de las estrías de la segunda estriación, se realiza la tercera estriación, realizando las 2 últimas estriaciones mucho más separadas, con la finalidad de aislar las colonias; finalmente hacer picaduras sobre las estrías para observar la hemólisis que produzcan las bacterias.

Siembra por técnica de KASS para urocultivo.

- Introducir el asa calibrada de manera vertical en la orina a sembrar; consiguiente realizar la descarga de la muestra en la parte superior del agar y arrastrar de forma vertical; seguido a eso realice cinco estrías en forma de zigzag sobre la estría vertical y realice picaduras en las estrías de zigzag para observar la hemólisis.
- Tapar la caja e incubar por 24 horas a 37°C, colocándola de manera inversas o boca abajo.
- Al siguiente día realizar las observaciones y reporte necesario. (Ullauri, 2020).

Bibliografía.

Ullauri, C. (2020). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA*.
file:///D:/LABORATORIO CLINICO/SEXTO CICLO/MICROBIOLOGÍA CLÍNICA
I/LIBRO Y GUIA/MANUAL DE PRÁCTICAS MICROBIOLOGÍA CLÍNICA I.
SEPTIEMBRE 2020-signed.pdf

López, J., & Campuzano, G. (2013). EL urocultivo: prueba ineludible para el diagnóstico
específico de la infección del tracto urinario y el uso racional de los antibióticos. *REVISTA
DE MEDICINA & LABORATORIO*, 19(5-6), 1-32.


<https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2013/myl135-6b.pdf>

Rodríguez, C., y Zhurbenko, R. (2018). *MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO*.

<https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 10. Protocolo para tinción de Gram

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología	Universidad Nacional de Loja	Protocolo de para tinción de Gram	ANEXO 10
			N.º páginas: 2

PROTOCOLO PARA TINCIÓN DE GRAM

Objetivo: Proporcionar información rápida para diagnósticos de infecciones, revelando los agentes causales; a la vez permitir distinguir entre una muestra contaminada y una infección verdadera.

Alcance: Brindar información adecuada a estudiantes y docentes sobre la importancia de realizar una buena tinción de muestras con el objetivo de poder observar las estructuras bacterianas.

Definiciones: La tinción de Gram permite diferenciar a las bacterias en 2 grupos. Bacterias gram positivas, son aquellas que se caracterizan por retener la tinción azul – violeta, mientras que bacterias gram negativas son aquellas que no retienen esta coloración y luego se tiñen con safranina. Se conoce que la diferencia de tinciones es por la estructura que presentan en las paredes los 2 tipos de bacterias. Las bacterias gram positivas presentan pared gruesa compuesta por peptidoglucanos y polímeros e impermeables que hace que exista una resistencia a la decoloración; por otra parte las bacterias gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucanos más una bicapa de lipoproteínas que se puede deshacer con la decoloración. Es importante mencionar que la tinción de Gram es un método eficaz e importante en el laboratorio, a la vez que es económico y ágil (Rodríguez y Arenas, 2018)

Responsable:

Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- ✓ Colorante Cristal violeta.
- ✓ Colorante Lugol.

- ✓ Colorante Alcohol cetona.
- ✓ Colorante Safranina.
- ✓ Placas porta y cubre objetos.
- ✓ Muestra a analizar.

Procedimiento.

- ✓ Rotular la placa y colocar la muestra, luego esperar que se seque.
- ✓ Fijar la placa con ayuda de un mechero de Bunsen.
- ✓ Colocar el primer colorante que es cristal violeta a la primera placa durante un lapso de 1 minuto.
- ✓ Cumplido el tiempo lavar con agua hasta eliminar todo el colorante.
- ✓ Colocar Lugol que es mordiente del primer colorante y dejar durante 1 minuto.
- ✓ Lavar con agua hasta eliminar el colorante en su totalidad.
- ✓ Proceder a colocar el alcohol cetona que es un decolorante que se encuentra en una concentración al 30%, por un lapso de 20 segundos.
- ✓ Lavar con agua en una cantidad moderada.
- ✓ Colocar la safranina y esperar un tiempo de 20 segundos.
- ✓ Lavar la placa con agua para luego colocar a secar a temperatura ambiente.
- ✓ Una vez secadas las placas observar las mismas bajo el microscopio enfocando primeramente con el objetivo de 40x, para luego pasar al objetivo 100x en donde se adiciona una gota de aceite de inmersión. (Rodríguez y Arenas, 2018)

Bibliografía.

Rodríguez, P., y Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Revista de Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16 (2), <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>

ELABORADO POR:	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 11. Procedimiento para realización de pruebas bioquímicas para bacterias gram positivas

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología	Universidad Nacional de Loja	Protocolo para identificación de bacterias gram positivas	ANEXO 11
			N.º páginas: 5

PROTOCOLO Y ALGORITMO PARA REALIZACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Objetivo: Describir el procedimiento o protocolo para la realización de pruebas bioquímicas que permitan identificar bacterias Gram positivas causantes de ITU en muestra de orina.

Alcance: Proveer información que pueda ser puesta en práctica de manera adecuada, lo cual permitirá al encargado de la realización de pruebas tener seguridad y realizar correctamente los procesos, con el propósito de obtener resultados eficaces y veraces.

Definiciones: Los cocos Gram positivos son un grupo de bacterias, no poseen endosporas y su forma es esférica. Poseen una pared celular formada por peptidoglucano principalmente, ácidos teicoicos y lipoteicoicos, todos estos componentes le brindan rigidez a la estructura bacteriana a la vez que permiten generar una respuesta de tipo inmunitaria en el huésped. Tanto el ácido teicoico como el ácido lipoteicoico, que está unido a la membrana citoplasmática, se los consideran factores de virulencia. Estas bacterias se pueden clasificar en los distintos géneros y especies descubiertos gracias a una serie de pruebas de laboratorio (Cañadas & García, 2020).

Una subclasificación de este grupo puede realizarse a partir de la presencia o ausencia de la catalasa como actividad. Dependiendo del resultado se realizan pruebas adicionales como la CAMP, coagulasa, novobiocina, PYR, etc. (Cañadas & García, 2020).

Responsable: Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento.

Catalasa.

Realizar frotis de una colonia pura de 24 horas en una placa porta objetos, luego añadir 1 gota de peróxido de hidrógeno al 3% y realizar observación.

Resultado: la producción o aparición de burbujas de gas o aparición de efervescencia va a indicar una reacción positiva en donde se identifica que la bacteria es un estafilococo caso contrario será una reacción negativa en donde se conocerá que la bacteria es un estreptococo (Koneman, 2008).

Coagulasa.

Prueba en tubos (coagulasa libre): Primeramente se debe colocar de manera séptica 0.5 ml de plasma citratado. Luego colocar de 5 a 6 colonias mediante técnica de rotación en el tubo evitando agitar el contenido. Seguido a eso colocar a incubar el tubo durante un lapso de 4 horas, realizar la lectura (MacFaddin, 2004).

Resultado: Reacción positivas será si se ha dado la formación de un coágulo, caso contrario será una reacción negativa (MacFaddin, 2004).

Novobiocina.

Se debe preparar una suspensión 0.5 McFarland en suero fisiológico o agua destilada, luego se debe hisopar una petri con agar sangre y colocar el disco de novobiocina, posterior a eso incubar la placa en un ambiente aeróbico durante 24 horas para luego interpretar (MacFaddin, 2004).

Resultado: Se consideran cepas resistentes o *S. saprophyticus* cuando los halos miden entre 6 a 12 mm, mientras que si son halos mayor a ese tamaño se considera sensible (MacFaddin, 2004).

Furazolidona.

Se debe preparar una suspensión 0.5 McFarland en suero fisiológico o agua destilada, luego se debe hisopar una petri con agar sangre y colocar el disco de furazolidona, posterior a eso incubar la placa en un ambiente aeróbico durante 24 horas para luego interpretar (Koneman, 2008).

Resultado:

Se consideran cepas resistentes o *S. saprophyticus* cuando los halos miden entre 6 a 12 mm, mientras que si son halos mayor a ese tamaño se considera sensible (Koneman, 2008).

Prueba de Bacitracina.

En un lado de un agar sangre, mediante la utilización de un asa estéril, se estría en forma continua la cepa de estreptococo betahemolítico en una cantidad de 3 a 4 cepas, luego con una pinza estéril se coloca el disco de bacitracina y uno de SXT en el centro del estriado realizado. La placa de agar sangre se incuba a una temperatura de 37°C durante toda la noche. Luego los resultados al ser cualitativos, se los reporta mediante observación analizando el halo de inhibición que se ha formado alrededor del disco (MacFaddin, 2004).

Resultado:

Cuando se es Sensible a bacitracina y Resistente a SXT se presume que será estreptococo del grupo A; cuando se es Resistente a Bacitracina y Resistente a SXT se presumirá que es del grupo B; y cuando se es Sensible o Resistente a Bacitracina y Sensible a SXT no será ni grupo A ni B (MacFaddin, 2004).

Prueba de Optoquina.

Se utilizan 3 a 4 colonias puras obtenidas con un hisopo, luego se realiza estriación en una placa agar sangre; seguidamente sobre la estría se coloca un disco de optoquina, se incuba con CO₂ al 5% durante un día a 35°C, finalmente se leen resultados (MacFaddin, 2004).

Resultado:

Se considera sensible cuando existe halo de inhibición formado alrededor del disco considerando como punto de corte 16mm para discos de 10mm; mientras que se considera punto de corte de 14mm para discos de 6mm (MacFaddin, 2004).

Por otra parte se considera resistente cuando el crecimiento no es inhibido alrededor del disco (MacFaddin, 2004).

Prueba de CAMP.

En un agar sangre se debe realizar una estría con *S. aureus* ATCC25923, luego perpendicularmente a esta se debe estriar otra cepa problema sin que se llegue a unir. Luego se debe incubar durante un lapso de tiempo de 24 horas a temperatura de 35°C, y luego se analiza (MacFaddin, 2004).

Resultado:

Se debe observar si se da la formación de una potenciación de la hemólisis en punta de flecha entre estas 2 cepas, por lo tanto la prueba se deberá considerar positiva, si no se da la formación de punta de flecha la prueba sera negativa (MacFaddin, 2004).

Prueba de Bilis esculina.

Se utiliza una aguja de siembra con el objetivo de inocular en pico de flauta en un medio de bilis esculina a la cepa que se desea analizar o estudiar, luego se debe incubar durante 24 a 48 horas a temperatura de 35°C en medio aerobiosis (MacFaddin, 2004).

Resultado:

Se considerar que la cepa pertenece al género *Enterococcus* cuando el medio aparece de color ennegrecido, mientras que si no se da esa coloración el género de la cepa sera de tipo *Streptococcus* (MacFaddin, 2004).

Prueba de piruvato.

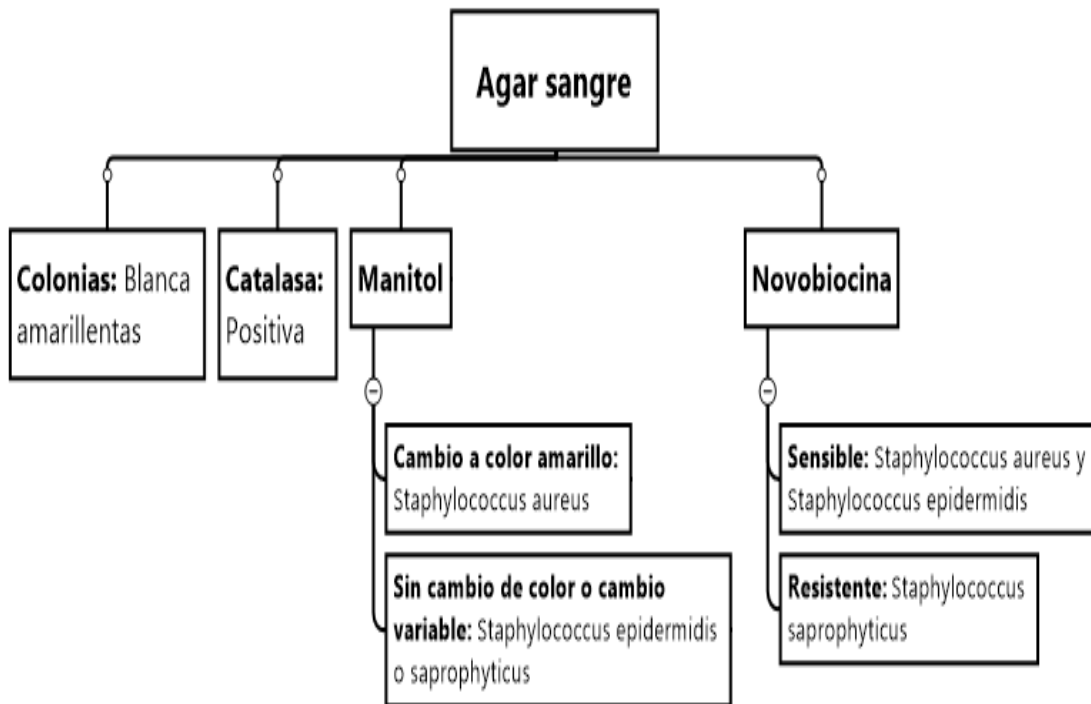
Se utiliza una aguja para sembrar e inocular en pico de flauta en un medio de piruvato la cepa que se desea estudiar, luego se debe incubar durante 24 a 48 horas a temperatura de 35°C en medio aerobico, transcurrido el tiempo se deberá leer los resultados (MacFaddin, 2004).

Resultado:

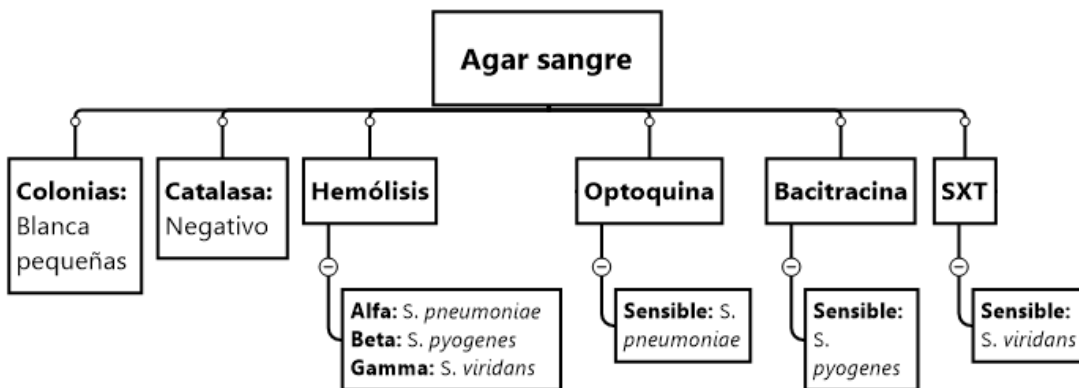
De presentarse hidrólisis evidente por un cambio del color del medio se podra decir que las cepas pertenecen a *E. faecalis* (MacFaddin, 2004).

Algoritmo para gram positivos de importancia clínica

Staphylococcus spp



Streptococcus spp



Enterococcus spp



Bibliografía.

MacFaddin, J. (2004). *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Editorial Médica Panamericana.

Koneman. (2008). *Diagnóstico microbiológico (6ª ed.)*. Editorial Médica Panamericana.

ELABORADO	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
POR:		
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 12. Protocolo para identificación de bacterias gram negativas de importancia clínica

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología	Universidad Nacional de Loja	Protocolo para identificación de bacterias gram negativas	ANEXO 12
			N.º páginas: 5

PROTOCOLO PARA PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.

Objetivo: Describir el procedimiento o protocolo para la realización de pruebas bioquímicas que permitan identificar bacterias Gram negativas causantes de ITU en muestra de orina.

Alcance: Proveer información que pueda ser puesta en práctica de manera adecuada, lo cual permitirá al encargado de la realización de pruebas tener seguridad y realizar correctamente los procesos, con el propósito de obtener resultados eficaces y veraces.

Definiciones: Las Enterobacteriaceae abarcan las especies que colonizan en forma habitual el tubo digestivo humano y se asocian con infecciones humanas. Así también, comprende géneros que pueden colonizar a los seres humanos pero que ocasionalmente se asocian con infecciones humanas o que en la mayoría de los casos se reconocen como habitantes del medio o colonizadores de otros animales. Son microorganismos que fermentan glucosa, no producen o generan oxidasa, su crecimiento se da en agar MacConkey en ocasiones producen catalasa y reducen nitratos a nitritos (Sacsquispe & Bailón, 2018).

Escherichia coli es la causa más frecuente de infecciones nosocomiales, también constituye la principal causa de infecciones urinarias en personas que no se encuentran en hospitalización. Existen otras especies como las especies de *Shigella*, *Salmonella*, y *Yersinia enterocolítica*, que solo habitan en el intestino cuando causan infección y se adquieren por la ingesta de agua o alimentos contaminados (Bellido, 2018)

Responsable:

Juan Diego Ludeña García.

Descripción del procedimiento:

Para las pruebas en tubo como todo procedimiento microbiológico se lleva a efecto en un medio estéril, con el asa en punta previa esterilización al calor, se toma una colonia sutilmente y se hace picaduras y estriaciones en medios de la siguiente manera:

SIM: solo picadura

TSI: picadura y estriación en pico de flauta

Citrato: solo estriación en pico de flauta.

Lisina: picadura y estría en pico de flauta

Urea: picadura y estriación en pico de flauta

Una vez transcurrida la incubación de 24 a 48 horas, se interpretan las pruebas de la siguiente manera:

SIM: se observa si hubo formación de H_2S esto se da cuando aparece una coloración negra, para el Indol se utiliza Reactivo de Kovacs y se ve si hay la formación de un anillo rojo y finalmente se observa la motilidad que se presenta como una turbidez en diferentes direcciones en la zona de la picadura (Ullauri, 2020).

TSI: Se observa interacción de los microorganismos con los azúcares que se encuentran presentes en el medio; una tonalidad amarilla es ácida A por lo cual se infiere que hay fermentación de glucosa, mientras que una coloración roja es alcalina K por lo que se infiere que no hay fermentación de lactosa. Se observa también la producción de gas por lo que se observa burbujas y la formación de H_2S (Ullauri, 2020).

Prueba de la ureasa

Principio: La urea es una diamida de ácido carbónico. Todas las amidas se hidrolizan con liberación de dióxido de carbono y amoníaco. La ureasa es una enzima que tiene muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar la urea. El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, lo que produce alcalinización y aumento de pH del medio (Ullauri, 2020).

Procedimiento: El medio se siembra con un asa de cultivo en estado puro del microorganismo que se quiere probar, la superficie inclinada del agar en forma de pico de flauta se siembra en estría con el microorganismo por probar. Ambos medios se incuban a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas (Ullauri, 2020).

Interpretación de los resultados: Los microorganismos que hidrolizan o degradan la urea de manera rápida pueden producir reacciones positivas entre 1 a 2 horas. Las especies menos

frecuentemente activas tienden a requerir de 3 días o más. Por lo tanto, las bacterias que hidrolizan el medio donde han sido sembradas van a producir un color rojo o rosado, y las que no hidrolizan el medio van a presentar un color amarillo (Ullauri, 2020).

Citrato: Se observa el cambio de color del medio de verde a un azul eléctrico lo cual corresponde a un citrato positivo (Ullauri, 2020).

Lisina descarboxilasa.

Principio: Las descarboxilasas es un grupo de enzimas con sustrato específico capaces de reaccionar con el residuo carboxilo (COOH) de los aminoácidos, para formar aminas de reacción alcalina. Esta reacción, conocida como descarboxilación, forma dióxido de carbono como producto secundario. Cada descarboxilasa es específica para un aminoácido. Los tres aminoácidos que se prueban habitualmente para la identificación de las Enterobacteriaceae son lisina, ornitina y arginina. Los productos aminados específicos son los siguientes: Lisina Cadaverina Ornitina Putrescina Arginina Citrulina La conversión de arginina a citrulina es una reacción de hidrolasa y no de descarboxilasa en la que el grupo amino se elimina de la arginina como primer paso la citrulina se convierte a continuación a ornitina, que se a su vez se descarboxilasa para formar putrescina. El medio para descarboxilasas es de Moeller es la base utilizada con mayor frecuencia para determinar la capacidad de descarboxilación de Enterobacteriaceae. El aminoácido por probar se agrega a la base de descarboxilasa antes de la siembra con el microorganismo en estudio (Ullauri, 2020).

Procedimiento: Sembrar en un tubo de medio de descarboxilasa de Moeller, a partir de una colonia aislada del microorganismo en estudio que previamente se desarrolló en agar de aislamiento primario. Incubar a 35°C durante 18 a 34 horas. Al principio de la incubación ambos tubos viran al amarillo, debido a la fermentación de pequeña cantidad de glucosa que contiene el medio. Si el aminoácido es descarboxilado se forman aminas alcalinas y el medio vira nuevamente a su color púrpura original (Ullauri, 2020)

Interpretación.

Positivo: Azul púrpura, con fondo purpura.

Negativo: Amarillo brillante o claro - violeta, con fondo amarillo (el microorganismo solo fermento la glucosa) (Ullauri, 2020)

Prueba de citocromo oxidasa

Principio: La prueba oxidasa utiliza reactivos, como el dehidrocloruro de fenilendiamina, que sustituye al oxígeno como aceptador artificial de electrones. En estado reducido, el colorante es incoloro, sin embargo, en presencia de celcitocromooxidasa y de oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina se oxida y forma azul de indofenol. Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como último eslabón de la cadena de respiración aerobia, transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con la formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en microorganismos aerobios o microaerófilos y anaerobios facultativos, de modo que la prueba oxidasa es importante para identificar a los microorganismos que carecen de la enzima o son aerobios obligados. La prueba tiene su mayor utilidad para diferenciar colonias sospechosas de pertenecer a alguna de las Enterobacteriaceae (todas negativas), y para identificar las sospechosas de pertenecer a otros géneros como Aeromonas, Pseudomonas, Neisseria, Campylobacter y Pasteurella (positivas) (Ullauri, 2020).

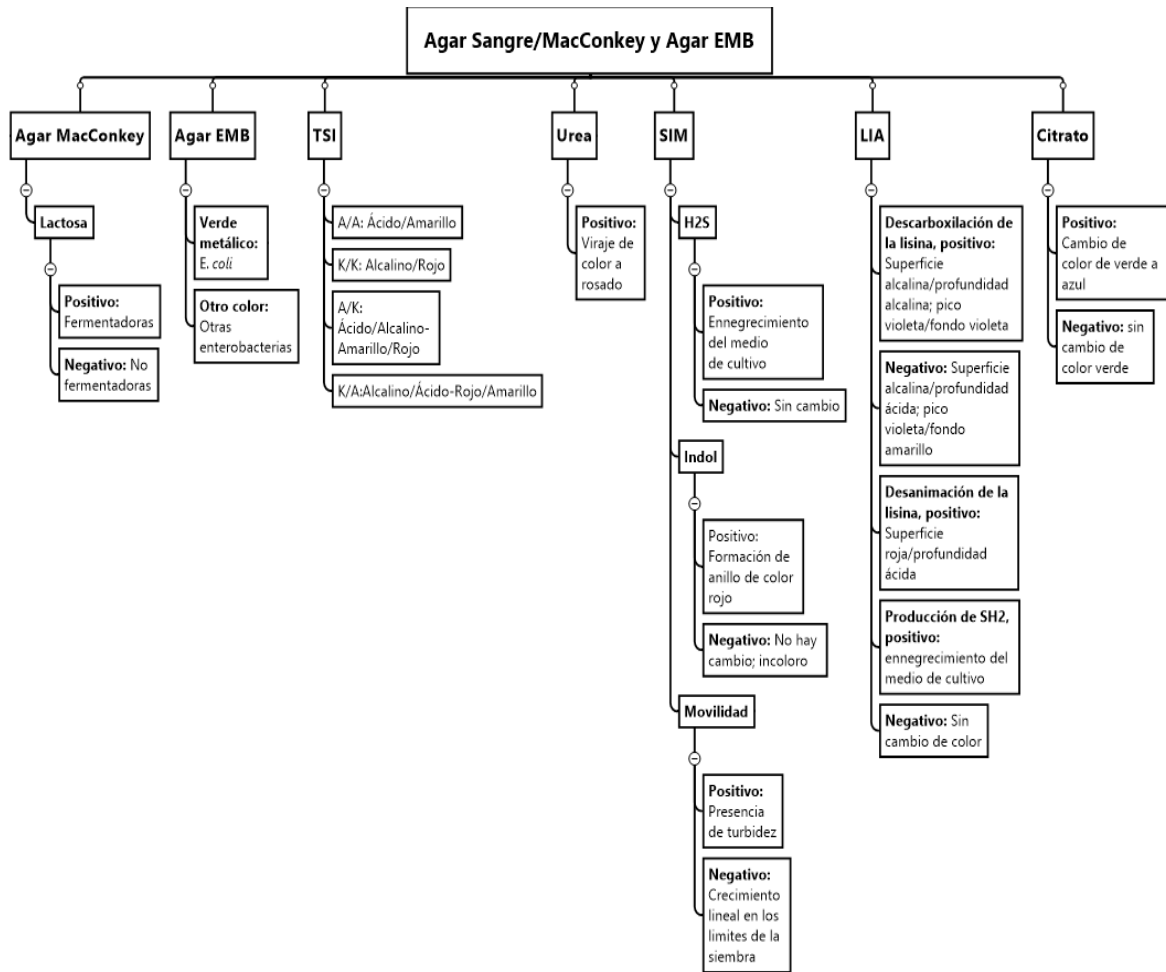
Procedimiento.

- La prueba suele realizarse por uno de dos métodos:
- La técnica directa en placa, en la cual se añade de 2 a 3 gotas de reactivo directamente sobre colonias aisladas desarrolladas en agar.
- El procedimiento indirecto con tiras de papel, en el cual se añade unas gotas de reactivo a una tira de papel filtro o se utilizan tiras o discos comerciales impregnados de con reactivo desecado (Ullauri, 2020)

Interpretación de resultados.

Las colonias bacterianas con presencia de actividad crean un color azul oscuro en el sitio de inoculación en el término de 10 segundos. Cualquier bacteria que produzca color azul de 10 a 60 seg, se deberá probar nuevamente, ya que es probable que no pertenezca a las *Enterobacteriaceae* (Ullauri, 2020).

Algoritmo para Gram negativos de importancia clínica




Bibliografía.

- Ullauri, C. (2020). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA*. file:///D:/LABORATORIO CLINICO/SEXTO CICLO/MICROBIOLOGÍA CLÍNICA I/LIBRO Y GUIA/MANUAL DE PRÁCTICAS MICROBIOLOGÍA CLÍNICA I. SEPTIEMBRE 2020-signed.pdf
- MacFaddin, J. (2004). *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Editorial Médica Panamericana.
- Koneman. (2008). *Diagnóstico microbiológico (6ª ed.)*. Editorial Médica Panamericana.

ELABORADO	Juan Diego Ludeña Garcia	Fecha: 21/01/2022
POR:		
Aprobado por:	Lic. Iliana A. Delgado. Mg. Sc	

Anexo 13. Ingreso de datos en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 21

 <p>UNL 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología</p>	<p>Universidad Nacional de Loja</p> <p>Llenado de datos</p>	<p>ANEXO 13</p> <p>N.º páginas: 1</p>
--	--	---

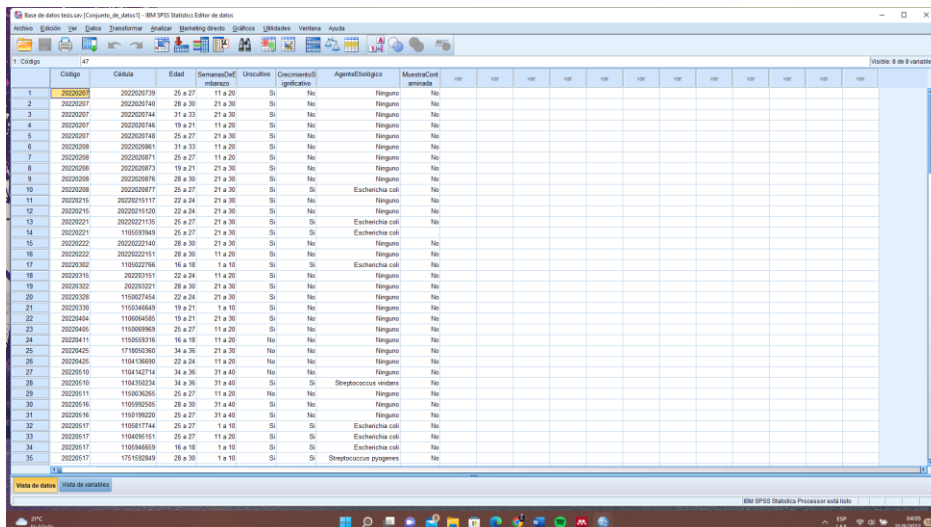
Ingreso de datos a partir de registro y cuaderno personal al programa SPSS Statistics 21

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

PROYECTO DE VINCULACIÓN "Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe"


Registro de Pacientes

FECHA	Nro.	NOMBRES COMPLETOS	EDAD	CÉDULA IDENTIDAD	TELÉFONO	EDAD GESTACIONAL	OBSERVACIONES
01/06/22	5	Andrea del Cisne Valverde Poma	30 años	110365601	099636777	23 Semanas	- O2 na - S.U
02/06/22	1	Diyette Jacob Quiroz Tene	27 años	115044482	099330005	23 Semanas	- O2 na - S.U
06/10/22	3	Yara Urbina Jalab Sanchez	21 años	090013736	099214259	19 Semanas	- O2 na - S.U
08/10/22	4	Zhanye QF Johanna Elizabeth	29 años	1752310530	046000068	22 Semanas	- O2 na - S.U
08/10/22	5	Jhalany Nial Soto Torres	17 años	115026584	099488541	2 Semanas	- O2 na - S.U
06/10/22	6	Camila Rojas Elías Andra	19 años	1150122743	097744096	9 Semanas	- O2 na - S.U
07/06/22	3	Bianca Susana Karia del Cisne	20 años	172788466	099550223	7 Semanas	- O2 na - S.U
08/10/22	1	Puga Uchuan Helen Michelle	21 años	1104749494	099531893	4 Semanas	- O2 na - S.U



Código	Cédula	Edad	SemanasDeEmbarazo	Uteroculto	CrecimientoEspecifico	AgenteEtiológico	MuestraCentrifugada
1	20202079	25 a 27	11 a 20	Si	No	Ninguno	No
2	20202077	202020740	28 a 30	21 a 30	Si	No	Ninguno
3	20202077	202020744	31 a 33	21 a 30	Si	No	Ninguno
4	20202077	202020746	19 a 21	11 a 20	Si	No	Ninguno
5	20202077	202020748	25 a 27	21 a 30	Si	No	Ninguno
6	20202088	202020861	31 a 33	11 a 20	Si	No	Ninguno
7	20202088	202020871	25 a 27	11 a 20	Si	No	Ninguno
8	20202088	202020873	19 a 21	21 a 30	Si	No	Ninguno
9	20202088	202020875	28 a 30	21 a 30	Si	No	Ninguno
10	20202088	202020877	25 a 27	21 a 30	Si	Escherichia coli	No
11	20202116	202021117	22 a 24	21 a 30	Si	No	Ninguno
12	20202116	202021120	22 a 24	21 a 30	Si	No	Ninguno
13	20202116	202021135	25 a 27	21 a 30	Si	Si	Escherichia coli
14	20202116	116001949	25 a 27	21 a 30	Si	Si	Escherichia coli
15	20202116	202021149	28 a 30	21 a 30	Si	No	Ninguno
16	20202116	202021151	28 a 30	11 a 20	Si	No	Ninguno
17	20202116	116002196	16 a 18	1 a 10	Si	Si	Escherichia coli
18	20202116	202021153	22 a 24	11 a 20	Si	No	Ninguno
19	20202116	202021155	28 a 30	21 a 30	Si	No	Ninguno
20	20202116	116002154	22 a 24	21 a 30	Si	No	Ninguno
21	20202116	116006464	19 a 21	1 a 10	Si	No	Ninguno
22	20202116	116004466	19 a 21	21 a 30	Si	No	Ninguno
23	20202116	116000989	25 a 27	11 a 20	Si	No	Ninguno
24	20202116	116001519	16 a 18	11 a 20	No	No	No
25	20202116	171804360	34 a 36	21 a 30	No	No	Ninguno
26	20202116	110413690	22 a 24	11 a 20	No	No	Ninguno
27	20202116	110416714	34 a 36	31 a 40	No	No	Ninguno
28	20202116	110430234	34 a 36	31 a 40	Si	Si	Streptococcus viduus
29	20202116	116002626	25 a 27	11 a 20	No	No	Ninguno
30	20202116	116002626	28 a 30	31 a 40	Si	No	Ninguno
31	20202116	116019020	25 a 27	31 a 40	Si	No	Ninguno
32	20202117	110811744	25 a 27	1 a 10	Si	Si	Escherichia coli
33	20202117	110401611	25 a 27	11 a 20	Si	Si	Escherichia coli
34	20202117	110548669	16 a 18	1 a 10	Si	Si	Escherichia coli
35	20202117	175192849	28 a 30	1 a 10	Si	Si	Streptococcus pyogenes

Anexo 14. Evidencias fotográficas del trabajo realizado

 1859 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA Facultad de la Salud Humana C. Manuel Monteros, Loja ÁREA: Laboratorio de microbiología	Universidad Nacional de Loja	Evidencias fotográficas	ANEXO 14
			N.º páginas: 3

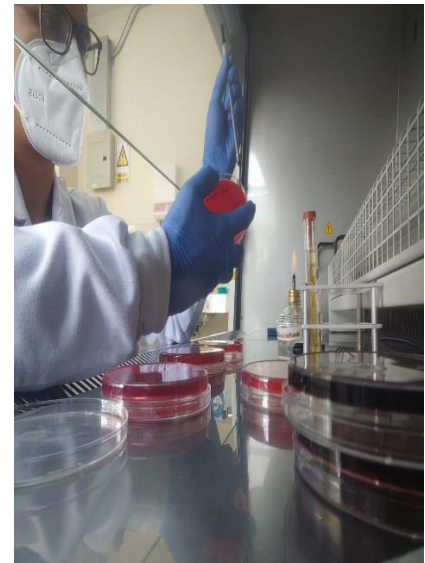
Recomendaciones, recepción y aplicación del consentimiento informado previa utilización de muestras de orina.



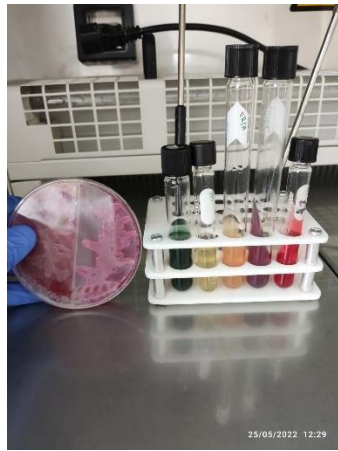
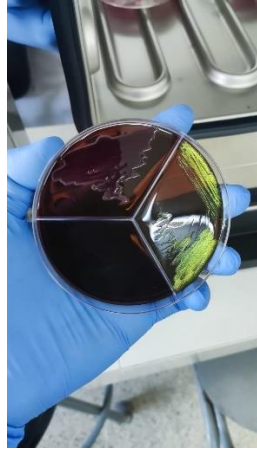
Realización de fase analítica: examen físico y químico de orina.



Centrifugado y análisis microscópico de orina; siembra.



Urocultivos positivos y pruebas bioquímicas.



Anexo 15. Certificado de traducción de Abstract

Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero
ENGLISH TEACHER

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis "Identificación de agentes etiológicos en infecciones de vías urinarias de pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Motupe", autoría de Juan Diego Ludeña García con número de cédula 1105006389, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

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

Loja, 20 de octubre de 2022



Lic. Mirian Carmen Sanchez Azuero
1105404386
ENGLISH TEACHER