



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe

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

AUTORA:

María Belen Carchi Flores

DIRECTORA:

Lcda. Ivanova Zúñiga Román Mg.Sc.

Loja – Ecuador

2022

Certificación del trabajo de integración curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

FECHA: 23 de septiembre de 2022

DE: Lcda. Ivanova del Cisne Zúñiga Román, DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PARA: Dra. Sandra Freire Cuesta, DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FSH-UNL.

ASUNTO: CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.

CERTIFICO:

Que una vez asesorada, monitoreada con pertinencia y rigurosidad científica la ejecución del trabajo de integración curricular del tema: "Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe" de la autoría de María Belén Carchi Flores, el mismo cumple con las disposiciones institucionales, metodológicas y técnicas, que regulan esta actividad académica; consecuentemente, dicho trabajo de integración curricular se encuentra culminado y aprobado, por lo que autorizo continuar con el proceso de titulación.



Firmado electrónicamente por:
IVANOVA DEL
CISNE ZUNIGA
ROMAN

.....
Lcda. Ivanova del Cisne Zúñiga Román M. Sc.
Directora del trabajo de Integración Curricular

Autoría

Autoría

Yo, **María Belen Carchi Flores**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a 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: 0707120069

Fecha: 06-12-2022

Correo electrónico: maria.carchi@unl.edu.com

Celular: 0939462531

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

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

Yo, **María Belén Carchi Flores**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe, como requisito para optar el grado de **Licenciada en Laboratorio Clínico**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

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

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los seis días del mes de diciembre del dos mil veinte y dos, firma la autora.

Firma:



Autor: María Belen Carchi Flores

Cédula: 0707120069

Dirección: Varsovia y Kirov

Celular: 0939462531

Correo electrónico: maria.carchi@unl.edu.com

Datos complementarios:

Directora del Trabajo de Integración Curricular: Lcda. Ivanova Zúñiga Román M. Sc.

Tribunal de Grado:

Lcda. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Se (Presidenta)

Lcda. Gladys Margoth Jumbo Chuquimarca, Mg. Se (Vocal 1)

Lcda. María del Cisne Luzuriaga Moncada, Mg. Se (Vocal 2)

Dedicatoria

Principalmente le agradezco a Dios por permitirme alcanzar una de mis metas trazadas, por estar en cada paso, cada momento, por ser mi guía, el que siempre me llena de salud y el que me provee de seguridad y protección a lo largo de mis estudios y de mi vida; a mis queridos padres Julio y Blanca, por su apoyo, confianza y amor incondicional en todos los aspectos de mi vida, impulsándome a seguir adelante y no rendirme hasta alcanzar todo lo que me proponga, a mis hermanos Pilar, Paulina, Julio, Marvin, Carlos y Josert porque siempre confiaron en mí y por ser mi apoyo en todo este trayecto académico; a mis amigos Adri, Laura, Juan, Luis y de manera especial a Stéfano quien me brindó su ayuda, paciencia y consejos que hicieron de mí una mejor persona y sobre todo por el cariño incondicional durante mi formación académica.

María Belén Carchi Flores

Agradecimiento

Al culminar con el presente trabajo investigativo, con el mayor de los esfuerzos y dedicación tengo la satisfacción de alcanzar mi meta y el deseo de agradecer infinitamente a todos aquellos que me han brindado una mano para llegar a mi objetivo y quienes de alguna manera han sido parte del mismo:

A mi directora del trabajo de integración curricular la Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc., por su compromiso y apoyo para guiarme además de brindarme su tiempo y las instrucciones necesarias para culminar con éxitos el presente.

Al Bq. Daniel Riascos M. Sc., por su apoyo para guiarme, su tiempo y brindarme las instrucciones necesarias para culminar con éxitos.

A la Universidad Nacional de Loja, Facultad de la Salud Humana y a la Lcda. Silvia Molina por su colaboración para que pueda realizar la parte práctica de mi trabajo de integración curricular. A la Carrera de Laboratorio Clínico, que me abrió sus puertas, forjándome las más sabias enseñanzas para en un futuro ejercer mi profesión de la manera más ética como Licenciada en Laboratorio Clínico. A todos mis docentes por su vocación al bríndame sus conocimientos y enseñanzas que ayudaron a mi formación como profesional

María Belén Carchi Flores

Índice de contenido

Portada.....	i
Certificación del trabajo de integración curricular	ii
Autoría	iii
Carta de autorización por parte del autor para consulta, reproducción parcial o tal y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenido.....	vii
Índice de tablas.....	ix
Índice de anexos	x
1. Título	1
2. Resumen	2
3. Introducción.....	4
4. Marco teórico.....	6
4.1. Etiología.....	6
4.2. Resistencia bacteriana	6
4.2.1. Resistencia natural o intrínseca	6
4.2.2. Resistencia adquirida	6
4.2.3. Resistencia cromosómica.....	6
4.2.4. Resistencia extracromosómica.....	7
4.3. Mecanismos de Resistencia.....	7
4.3.1. Hidrólisis enzimática	7
4.3.2. Modificación del sitio activo	7
4.3.3. Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano.....	7
4.3.4. Bombas de eflujo.....	7
4.4. Fenotipificación mediante el antibiograma.....	7
4.4.1. Detección fenotípica gram negativos	8

4.4.2.	<i>β-lactamasa tipo AmpC</i>	8
4.4.3.	<i>β-Lactamasas Resistentes a los inhibidores (IRT, OXA)</i>	9
4.4.4.	<i>β-lactamasas de espectro extendido BLEE</i>	10
4.4.5.	<i>Carbapenemasas</i>	10
4.4.6.	<i>Detección de resistencias Gram positivos Staphylococcus aureus</i>	11
4.4.7.	<i>Resistencia a penicilina</i>	11
4.4.8.	<i>Resistencia a meticilina</i>	12
4.4.9.	<i>Resistencia a Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas (MLS)</i>	12
4.4.10.	<i>Resistencia a Daptomicina</i>	13
4.4.11.	<i>Resistencia a Linezolid</i>	14
5.	Metodología	15
5.1.	Área de estudio	15
5.2.	Procedimiento	15
5.2.1.	<i>Enfoque metodológico</i>	15
5.2.2.	<i>Técnicas de recolección de datos</i>	15
5.2.3.	<i>Muestra</i>	15
5.2.4.	<i>Criterios de inclusión</i>	16
5.2.5.	<i>Criterios de exclusión</i>	16
5.3.	Procesamiento y análisis de datos	16
5.3.1.	<i>Fase post analítica</i>	16
6.	Resultados	17
7.	Discusión	20
8.	Conclusiones	22
9.	Recomendaciones	23
10.	Bibliografía	24
11.	Anexos	27

Índice de tablas

Tabla 1	17
Tabla 2	18
Tabla 3	18
Tabla 4	19

Índice de anexos

Anexo 1 Oficio de pertinencia y aprobación del proyecto de integración curricular	27
Anexo 2 Oficio de aprobación y designación de director del trabajo de integración curricular....	28
Anexo 3 Certificado de traducción	29
Anexo 4 Protocolo consentimiento informado	30
Anexo 5 Protocolo transporte de muestras	34
Anexo 6 Protocolo Preparación Müller Hinton	36
Anexo 7 Protocolo Para Realización De Inóculos	38
Anexo 8 Protocolo Para Colocación De Discos.....	40
Anexo 9 Protocolo Para Realización Del Control De Calidad Cepas ATCC	44
Anexo 10 Protocolo Interpretación Del Antibiograma	47
Anexo 11 Protocolo Para Detección Fenotípica De Carbapenemasas.....	51
Anexo 12 Protocolo Para Determinación De B-Lactamasa Tipo Ampc	57
Anexo 13 Protocolo Para La Determinación De BLEE Mediante Discos Combinados Y Sinergia De Discos	60
Anexo 14 Protocolo Para La Determinación De Macrólidos, Lincosamidas Y Estreptograminas	64
Anexo 15 Protocolo Control De Temperatura Incubadora Y Congelador.....	66
Anexo 16 Protocolo Para Eliminación De Medios De Cultivo	70

1. Título

Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe

2. Resumen

En la actualidad los mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos constituyen un problema de salud y una preocupación mundial debido a las amenazas que aquello representa para todas las personas sin importar el género o edad, de manera particular para los grupos vulnerables como es el caso de las pacientes en estado de gestación, mismas que pueden desarrollar mecanismos que impiden que los antibióticos ejerzan su acción, generando complicaciones con riesgo materno y fetal como amenaza de aborto, ruptura de membranas, parto pre término y un bajo peso al nacer, es por ello que el siguiente proyecto radica en fenotipificar la resistencia bacteriana de agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe, siendo de total apoyo para el diagnóstico médico reduciendo las reinfecciones y tasas de morbimortalidad materna y fetal, evitando la propagación de este fenómeno que resulta alarmante en la actualidad. El estudio fue de enfoque cuantitativo de tipo no experimental, de diseño transversal descriptivo, donde se examinaron 126 muestras de orina de pacientes embarazadas, de las cuales 19 urocultivos fueron positivos y se analizaron mediante métodos fenotípicos a través del antibiograma. Se determinó dos mecanismos de resistencia entre los aislamientos, uno de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y *Staphylococcus aureus* con resistencia a Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas (MLS) en un 5,26% para ambos casos. En agentes etiológicos gram negativos se encontró en mayor prevalencia una resistencia a ampicilina y en gram positivos a eritromicina y clindamicina.

Palabras Clave: Gestantes, infección, fenotipos, antibióticos, resistencias.

2.1. Abstract

At present, the mechanisms of bacterial resistance to antibiotics constitute a health problem and a global concern due to the threats that this represents for all people regardless of gender or age, particularly for vulnerable groups such as pregnant patients, who can develop mechanisms that prevent antibiotics from exerting their action, generating complications with maternal and fetal risk such as threatened abortion, rupture of membranes, preterm delivery and low birth weight, that is why that the following project lies in determining the bacterial resistance of etiological agents of urinary tract infection in pregnant patients of the Motupe University Health Center, being of total support for medical diagnosis, reducing reinfections and maternal and fetal morbidity and mortality rates, avoiding the spread of this phenomenon that is currently alarming. The study was of a non-experimental quantitative approach, with a descriptive cross-sectional design, where 126 urine samples from pregnant patients were examined, of which 19 urine cultures were positive and were analyzed by phenotypic methods through antibiogram. Two resistance mechanisms were determined among the isolates, one of *Escherichia coli* producing Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBL) and *Staphylococcus aureus* with resistance to Macrolides, Lincosamides and Streptogramins (MLS) in 5.26% for both cases. Resistance to ampicillin was found to be more prevalent in gram-negative etiological agents and in gram-positive agents to erythromycin and clindamycin.

Keywords: Pregnant women, infection, phenotypes, antibiotics, resistance.

3. Introducción

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son catalogadas como la patología con mayor frecuencia en pacientes embarazadas, en el año 2019 el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) reportó una prevalencia entre el 20 y 30% de infecciones de vías genitourinarias en el embarazo, esta población presenta una mayor predisposición a adquirir una ITU en algún momento de su edad gestacional por los cambios fisiológicos, hormonales y anatómicos propios del estado, lo que puede generar complicaciones como amenaza de aborto, ruptura de membranas, parto pre término y un bajo peso al nacer, por ende, es de gran importancia una adecuada terapéutica evitando multirresistencias bacterianas (Álvarez, 2019)

La resistencia bacteriana a los antibióticos en la actualidad es una de las mayores amenazas para la salud a nivel mundial, afectando a cualquier persona sin importar el género o edad, incluidas las poblaciones más vulnerables como las mujeres embarazadas que son afectadas en mayor proporción (Acosta et al., 2019).

El paulatino crecimiento de la resistencia antimicrobiana ha ocasionado que las infecciones que antiguamente podían tratarse fácilmente con el uso de antibióticos hoy en día ya no puedan ser tratadas o requieran de tratamientos más fuertes contra una infección de vías urinarias, mismas que aumentan de manera considerable el riesgo de trabajo de parto pre término y una rotura prematura de membranas, por ende, la realización de un estudio que determine el grado de resistencia bacteriana en esta población se considera de vital importancia para poder identificar a tiempo estos factores de riesgo (Viquez et al., 2020)

Las bacterias adquieren resistencias desarrollando mecanismos que impiden al antibiótico ejercer su acción, los cuales pueden ser bombas de eflujo o expulsión del antibiótico del interior de la célula bacteriana, modificación o inactivación del antibiótico mediante enzimas hidrolíticas, bloqueo de la penetración del antibacteriano mediante modificación del sitio activo, alteración o disminución de la permeabilidad de la membrana celular bacteriana y sobreexpresión del sitio blanco (Viquez et al., 2020)

En Colombia en los años 2018-2019 las gestantes de entre 18 y 35 años mostraron una prevalencia global del 14.94% de ITU, cuyo agente causal más frecuente fue *Escherichia coli* (80.47%), del cual el 17 % fueron organismos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Espitia, F. 2021). Por otra parte en Lima- Perú en el año 2018 las mujeres gestantes mostraron incremento en microorganismos que fueron aislados tales como *E. coli* productoras de BLEE ocupando un 7.4% (Quirós, A. 2018).

En un estudio realizado en Bogotá, en el año 2013-2015, las gestantes con urocultivos positivos, muestran un índice elevado de *E. coli* con una prevalencia del 71.4%, seguido por *Klebsiella pneumoniae* con un 20% donde la resistencia a ampicilina fue de 37.3%, a trimetoprim sulfametoxazol 23.3%, cefalotina 11.1%, así mismo, existe una sensibilidad a fosfomicina de

98%, se pudo apreciar tasas de expresión de betalactamasas donde fueron relativamente bajas (Gómez, M. 2018). Igualmente, en México, en los últimos años la resistencia antimicrobiana ha ido en aumento a causa del uso excesivo e inadecuado de los antibióticos, siendo así, que las ITU causadas por *E. coli* presentan una resistencia a quinolonas y cefalosporinas que supera el 20%, este patógeno también posee una resistencia a la cefuroxima del 35%, cifras que resultan alarmantes (Durán, 2018).

En Ecuador, durante los años 2017- 2018 en el Hospital Hesburgh en la comunidad de Santo Domingo de los Colorados, las pacientes embarazadas presentaron infecciones urinarias ocasionadas por *E. coli* (92.5%) de las cuales el 25.1% eran productoras de BLEE, con resistencia completa a todos los betalactámicos (Ross et al., 2020). De igual manera en la ciudad de Quito en el año 2018 el 79.81% de gestantes presentaron ITU donde el agente etiológico más común fue *E. coli*, encontrándose producción de BLEE con una frecuencia del 20.19% (Viquez et al., 2020).

Por otra parte, En Ecuador un estudio realizado en el año 2016 en mujeres embarazadas, determinó que *E. coli* fue el patógeno mayormente identificado con una incidencia del 83%, los resultados de susceptibilidad antimicrobiana evidenciaron que el 56.7% era resistente al trimetoprim/sulfametoxazol, mientras que el 52.5% era resistente a la ampicilina, 32,5% a ciprofloxacina y 26.7% fue resistente a ampicilina/sulbactam, no existió resistencia a meropenem, imipenem y ertapenem (Guamán et al., 2016).

Por los antecedentes mencionados se ha logrado hacer énfasis en el siguiente proyecto mismo que radica en fenotipificar las resistencias de bacterias gram negativas y positivas presentes en infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas, siendo de total apoyo para el diagnóstico médico reduciendo las reinfecciones y tasas de morbimortalidad materna y fetal, evitando la propagación de este fenómeno que resulta alarmante en la actualidad especialmente en las pacientes gestantes que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe.

4. Marco teórico

4.1. Etiología

Entre los bacilos gramnegativos los que predominan son *Escherichia coli* (63-85%) y *Klebsiella spp* (8%), en el caso de cocos grampositivos Estafilococo coagulasa negativa (15%), *Staphylococcus aureus* (8%) y Estreptococos betahemolíticos de grupo B (2-10%) (Ferreira et al., 2017).

Es importante mencionar que en las infecciones del tracto urinario los microorganismos invaden con mucha más facilidad, las bacteriurias asintomáticas suelen ser más frecuentes en el primer trimestre, mientras que la cistitis y pielonefritis ocurren en el segundo trimestre, por ende la importancia clínica ante esta patología ya que hoy en día se muestra un 25% de recurrencia debido a la mala administración de antibióticos, presentando una resistencia bacteriana, contando con menos opciones terapéuticas para un tratamiento adecuado, expresándose de manera agravante a la madre y al feto (Viquez et al., 2020)

4.2. Resistencia bacteriana

Las resistencias ocurren cuando a lo largo del tiempo los microorganismos dejan de responder ante un medicamento empleado, debido a una mala administración, tornándose ineficaces (Viquez et al., 2020), este fenómeno creciente se caracteriza por la contrariedad parcial o total de microorganismos al efecto del antibiótico, mismo que ha sido administrado con un uso irracional (Viquez et al., 2020)

4.2.1. Resistencia natural o intrínseca

Existen bacterias que carecen de diana para dichos antibióticos, ya que cuando las cepas son pertenecientes a la misma especie suelen ser resistentes a un antibiótico sobre el que va a actuar la bacteria (Pietro, 2018)

4.2.2. Resistencia adquirida

Se debe a la modificación de la carga genética de las bacterias, mismas que pueden mostrarse como mutaciones cromosómicas o ya sea por mecanismos de transferencia génica (Daza; Pérez)

4.2.3. Resistencia cromosómica

Este tipo de resistencia es originada por las mutaciones de material genético, basándose en una velocidad de multiplicación de bacterias mismas que provocan que sean mucho más propensas para producir mutaciones, es así que la sola presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo sensible fomentando la proliferación de los mutantes resistentes (Pietro, 2018)

4.2.4. Resistencia extracromosómica

Este tipo de resistencia se debe a la incorporación de material genético distinto al que posee la bacteria y se sitúa por fuera del cromosoma, ya que le brinda características especiales (Bello et al., 2016)

4.3.Mecanismos de Resistencia

Los mecanismos de resistencia bacteriana son un problema continuo y últimamente en aumento masivo, ya que presenta más de un mecanismo de resistencia incluso cuando cuentan con la facultad de transmitirlo, no solo a su descendencia si no a otras bacterias de su misma o diferente especie, es así que se las conoce como cualidades independientes de las bacterias mismas que se desarrollan con la finalidad de adquirir resistencia a los antibióticos a los que previamente eran susceptibles (Gastelo Acosta Rosy & Vargas Rosy, 2018)

4.3.1. Hidrólisis enzimática

Las bacterias sintetizan enzimas que hidrolizan al antimicrobiano, destruyendo su acción antibacteriana, sin tener posibilidad de actuar sobre el microorganismo, este mecanismo involucra la inactivación de los betalactámicos por la acción de enzimas conocidas como betalactamasas, y es el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos (Viquez et al., 2020)

4.3.2. Modificación del sitio activo

La modificación de un aminoácido genera un blanco diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano(Viquez et al., 2020)

4.3.3. Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano

Cambios en el diámetro y número de porinas pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria ya que de esta manera el antibiótico no puede penetrar la superficie bacteriana y alcanzar el núcleo celular, esta es la forma más frecuente de resistencia natural (Viquez et al., 2020)

4.3.4. Bombas de eflujo

Transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antimicrobiana, es decir que la bacteria dispone de bombas de expulsión dependientes de energía, que pueden comportarse como sistemas de eliminación de uno o varios antibióticos (Viquez et al., 2020)

4.4.Fenotipificación mediante el antibiograma

La prevalencia cada vez es mayor con respecto a las resistencias frente a los antimicrobianos siendo importante y por ende de preocupación en el campo de la salud, este tema requiere un enfoque ante los diferentes tipos de bacterias tanto grampositivos y gramnegativos, según el manual del CLSI del 2022 en el primer caso menciona las gram negativas tales como B-lactamasas resistentes a inhibidores IRT-OXA, B-lactamasas AmpC, B-lactamasas de espectro

extendido (BLEE) y Carbapenemasas en segundo caso habla de las gram positivas como la resistencia a penicilinas, resistencia a meticilinas, resistencia a macrólidos, licosamidas y estreptograminas y para enterococcus spp cuenta con Resistencia adquirida a aminoglucósidos y resistencia adquirida a glucopéptidos todas son catalogadas de importancia clínica (Carlos G. Malbrán, 2022)

4.4.1. Detección fenotípica gram negativos

4.4.2. β -lactamasa tipo AmpC

Esta enzima es diferente de las β -lactamasas de tipo penicilinasas tales como TEM-1, pero, al igual que ellas, tiene una serina en su sitio activo, la β -lactamasa de tipo AmpC puede ser cromosómica o plasmídica. A su vez, la forma cromosómica puede producir esta enzima de forma constitutiva o inducible, cuando el gen blaAmpC se expresa de forma constitutiva, suele producir niveles bajos de esta enzima, se debe tener en cuenta que estos niveles bajos de AmpC no llegan a hidrolizar de forma significativa los diferentes antibióticos β -lactámicos (González et al., 2019)

Las AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación incluidas las cefamicinas y en menor medida, las de tercera generación, mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación e incluso los carbapenémicos (González et al., 2019).

4.4.2.1. Detección Fenotípica de β -lactamasa tipo AmpC

En el antibiograma se puede evidenciar el carácter inducible de esta β -lactamasa mediante la prueba de aproximación de discos, consiste en situar un disco con un β -lactámico no inductor, pero sustrato de AmpC para cefotaxima, ceftazidima, aztreonam cercano a un β -lactámico inductor fuerte como el imipenem, ceftaxitina y ácido clavulánico, el achatamiento del halo del β -lactámico sustrato (inducción) en la zona adyacente al del inductor demuestra la expresión inducible de la β -lactamasa (Carroll et al., 2019)

Por ende, en el antibiograma para AmpC inducible se debe reportar el siguiente fenotipo halos de resistencia para penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación (C1G-C2G) incluyendo la ceftaxitina ≤ 14 mm y en raras ocasiones se apreciará la resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico ≤ 13 mm y ampicilina/sulbactam ≤ 11 mm (Carroll et al., 2019)

Mientras que se reportará sensibilidad para aztreonam ≥ 21 mm, cefalosporinas de tercera generación (C3G) cefotaxima ≥ 26 mm, ceftriaxona ≥ 23 mm y ceftazidima ≥ 21 mm, así como las cefalosporinas de cuarta generación (C4G) como cefepime ≥ 25 mm y carbapenemes como imipenem ≥ 23 mm y meropenem ≥ 23 mm y combinación de ceftazidima/avibactam ≥ 21 mm (Carroll et al., 2019)

Un marcador fenotípico muy utilizado para diferenciar la producción de AmpC de la de BLEE es la ceftaxitina. Salvo algunas excepciones, los aislados con fenotipo AmpC, a diferencia

de las BLEE, generalmente son resistentes a cefoxitina notándose un halo $\leq 14\text{mm}$ (Carroll et al., 2019)

Para el fenotipo AmpC plasmídica se puede notar la resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico $\leq 13\text{mm}$ y C3G cefotaxima $\geq 22\text{mm}$, ceftriaxona $\geq 19\text{mm}$ y ceftazidima $\geq 17\text{mm}$ (Carroll et al., 2019)

4.4.3. β -Lactamasas Resistentes a los inhibidores (IRT, OXA)

El tipo de betalactamasas de inhibidores de tipo IRT-OXA cuentan con un mecanismo enzimático, es así que las Inhibitor-resistant TEM mutan (IRT) se caracterizan por presentar resistencia a aminopenicilinas tales como la ampicilina con un halo de inhibición ≤ 13 , carboxipenicilinas, siendo resistentes a la acción de los inhibidores de β -lactamasas de clase A como el ácido clavulánico, y en su gran mayoría no tienen actividad sobre el resto de β -lactámicos, son catalogadas por mostrar resistencia a aminopenicilinas y carboxipenicilinas, y resistencia a amoxicilina y ácido clavulánico, mostrando también una sensibilidad a cefalosporinas de primera generación, se puede apreciar una sensibilidad a piperacilina-tazobactam (Astocondor Salazar, 2018)

Betalactamasas OXA: Es una betalactamasa mediada por plásmidos que puede hidrolizar oxacilina y penicilinas, existen reportes de OXA betalactamasas con actividad carbapenemasa. Las betalactamasas de amplio espectro que no alteran las C3G ni carbapenémicos son las OXA-1, OXA-2, OXA-3, OXA-4 y OXA-10, siendo la más frecuentes en enterobacterias las OXA-1 (Astocondor Salazar, 2018)

4.4.3.1. Detección Fenotípica e interpretación de las β -Lactamasas Resistentes a los inhibidores (IRT, OXA)

La detección fenotípica de las enzimas IRT y OXA-1 solamente es factible en enterobacterias naturalmente sensibles a la asociación amoxicilina/ácido clavulánico (Astocondor Salazar, 2018).

Una cepa que expresa una β -lactamasa de tipo IRT presentará resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y piperacilina (en mayor o menor medida), mientras que mantiene sensibilidad a las cefalosporinas, incluyendo las de primera generación como la cefazolina con un halo de inhibición de ≥ 15 (Astocondor Salazar, 2018).

En cuanto a los inhibidores de β -lactamasas, presentan sensibilidad disminuida o resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico halo ≤ 13 y ampicilina-sulbactam con una medición de ≤ 11 por el contrario, generalmente suele mantenerse o disminuir levemente la sensibilidad a piperacilina-tazobactam con una medición de halo ≤ 20 (Astocondor Salazar, 2018)

Las cepas portadoras de las β -lactamasas de tipo OXA (principalmente OXA-1) suelen presentar patrones similares a las portadoras de IRT, con la excepción de que las enzimas de tipo OXA pueden presentar una resistencia a cefepime halo $\leq 18\text{mm}$, esto se debe a una cierta

actividad del ácido clavulánico y a la menor sensibilidad de cefepime, es posible observar sinergia entre el ácido clavulánico y cefepime mediante la técnica de disco-difusión, el cual es característico netamente en enzimas de tipo OXA-1 (Astocondor Salazar, 2018)

4.4.4. β -lactamasas de espectro extendido BLEE

Son enzimas que extienden su espectro de hidrólisis a cefalosporinas de tercera y cuarta generación e incluso a monobactámicos, causando resistencia a penicilinas y cefalosporinas.

No afectan a cefamicinas (cefoxitina) ni a carbapenemes (imipenem, meropenem y ertapenem) y son inhibidas por el ácido clavulánico, el sulbactam, el tazobactam y el avibactam (Mejía et al., 2021)

4.4.4.1. Detección Fenotípica de las B-lactamasas de espectro extendido BLEE

Se realiza mediante los métodos confirmatorios según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), uno de ellos consiste en comparar los halos de inhibición de una cefalosporina de tercera o de cuarta generación solas y combinadas con ácido clavulánico en los mismos discos. Si la cepa en estudio posee una BLEE, el halo de inhibición de la cefalosporina de tercera generación sola será menor que el halo de la cefalosporina de tercera generación en presencia de ácido clavulánico. En este caso, el ácido clavulánico inhibe la BLEE y permite una mayor actividad de la cefalosporina, que se ve reflejada en un halo de mayor diámetro que el de la cefalosporina sola. Una diferencia ≥ 5 mm entre ambos halos de inhibición es indicativo de la presencia de BLEE (Viquez et al., 2020).

Otro método confirmatorio se basa en la colocación del disco de amoxicilina/ácido clavulánico en la parte céntrica notándose un halo de resistencia ≤ 13 mm entre los discos de ceftazidima ≤ 17 mm, cefotaxima ≤ 22 mm y el disco cefepime ≤ 18 mm de manera opcional se analiza discos como aztreonam ≤ 17 mm o ceftriazona ≤ 19 mm con una separación de 25-30 mm de centro a centro, notándose un agrandamiento o deformación efecto huevo, cola de pez o balón de futbol americano de la zona de inhibición de ceftriazona, cefepime, ceftazidima y aztreonam en las proximidades del disco central de amoxicilina y ácido clavulánico confirmando la presencia de una BLEE (Silva et al., 2018)

El efecto observado se debe a que tanto el ácido clavulánico como las cefalosporinas de tercera generación contenidos en los discos difunden radialmente generando un gradiente de concentración decreciente, donde las bacterias que se encuentren en la zona de intersección de ambos gradientes tienen la BLEE inhibida por el ácido clavulánico y de esta forma aumenta la actividad de la cefalosporina de tercera generación (Viquez et al., 2020)

4.4.5. Carbapenemasas

Las carbapenemasas, son enzimas inactivadoras de carbapenémicos, antimicrobianos β -lactámicos de amplio espectro con actividad bactericida frente a bacterias gramnegativas, tanto aeróbicas como anaeróbicas. Son sólo utilizados en cuadros de gran resistencia bacteriana, por lo

que, este mecanismo de resistencia inhibe prácticamente el último escalón terapéutico frente a organismos gramnegativos multiresistentes, dentro de las carbapenemasas de mayor relevancia clínica encontramos las de clase A *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemasa (KPC), Clase B (Metallo-B-lactamasas) y las de clase D (Tipo OXA) (Lespada, 2018)

Las carbapenemasas clase A son las inhibidas por el ácido clavulánico, estas enzimas confieren un fenotipo con pérdida marcada de sensibilidad a los carbapenemes, aztreonam y en menor medida a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, mientras que las de clase B son capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes, pero a diferencia de KPC no hidroliza aztreonam y es inhibida por el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), pero no es inhibida por inhibidores de β -lactamasas, como tazobactam, ácido clavulánico, finalmente contamos con las oxacilinasas de clase D que no se ven afectadas por el ácido clavulánico o el EDTA (Lespada, 2018)

Dentro de las carbapenemasas de clase A, las que tienen mayor importancia epidemiológica son las denominadas KPC mismas que hidrolizan de forma eficiente a penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos (Lespada, 2018)

4.4.5.1. Detección Fenotípica de Carbapenemasas

La mayoría de *K. pneumoniae* y *E. coli* sin carbapenemasas tienen CIM de imipenem y meropenem $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ (Castro et al., 2017)

Se puede realizar la interpretación de los fenotipos de carbapenemasas con antibióticos de ampicilina con ≤ 13 , amoxicilina/clavulánico ≤ 13 , piperacilina/tazobactam ≤ 20 , cefazolina ≤ 19 , cefoxitina ≤ 14 , ceftazidima ≤ 17 , cefepime ≤ 18 , aztreonam ≤ 17 , imipenem ≤ 19 , meropenem ≤ 19 (Castro et al., 2017).

4.4.6. Detección de resistencias Gram positivos *Staphylococcus aureus*

4.4.7. Resistencia a penicilina

Se debe a la producción de una β -lactamasa inducible que hidroliza únicamente penicilinas (penicilinasas). Los genes que codifican la producción de penicilinasas se encuentran en plásmidos, es importante tener en cuenta que la actividad de las cefalosporinas de primera generación es inferior a la de las penicilinas resistentes a penicilinasas, ya que son menos estables a la hidrólisis de la β -lactamasa (Novales, 2011)

4.4.7.1. Detección Fenotípica resistencia a penicilina

Las cepas de *S. aureus* resistentes a las penicilinas por producción de β -lactamasa puede realizarse por medio de la técnica de difusión con un disco de 10 U de penicilina o incluso por una dilución en caldo o en agar, considerando la sensibilidad mediante un halo de inhibición ≥ 29 mm, es importante mencionar que algunos aislamientos productores de B-lactamasas suelen resultar sensibles (Novales, 2011)

Por ende todos los aislamientos sensibles deben contar con una prueba de B-lactamasas inducida, misma que se analizará a las cefalosporinas cromogénicas (nitrocefina) utilizando colonias con crecimiento en el borde del halo de inhibición de la penicilina, en fin esta prueba consiste en depositar parte de las colonias antes mencionadas sobre el disco impregnado con nitrocefina misma que al hidrolizarse con la presencia de la B-lactamasa se podrá apreciar un cambio de color que va de amarillo a rojo (Novales, 2011)

4.4.8. Resistencia a meticilina

La resistencia a meticilina implica resistencia a todos los β -lactámicos, incluyendo las penicilinas, combinaciones de β -lactámico con inhibidores de β -lactamasas (IBL), cefalosporinas y carbapenemes, la excepción a esta regla corresponde a las nuevas cefalosporinas (ceftarolina y ceftobiprol), que tienen la propiedad de unirse con alta afinidad a la proteína de fijación de proteínas ligadas a penicilinas Penicillin Binding Protein (PBP) las penicilina resistentes a penicilinasas como oxacilina, meticilina y cloxacilina, mismas que cuentan con estructura molecular protegiéndose frente a la acción de B-lactamasas (Aguayo Reyes et al., 2018).

Se habla de la síntesis de una nueva PBP (PBP2a o PBP2) ya que exhibe poca afinidad por meticilina y B-lactámicos mismos que bloquean el antibiótico a su sitio blanco produciendo así un patrón de resistencia. (García et al., 2019)

4.4.8.1. Detección Fenotípica de la resistencia a meticilina

Resistencias a meticilina en *S. aureus* identificados en el laboratorio con ayuda de la técnica de difusión utilizando discos de cefoxitina, siendo el inductor más potente del sistema regulatorio de mecA, donde la expresión de PBP2a expresa la detección de la resistencia a meticilina donde se muestran cepas heterorresistentes, determinado por medio de E-test, donde las cepas muestran un halo de sensibilidad a cefoxitina ≤ 18 mm considerándose como una resistencia a la oxacilina. (Aguayo Reyes et al., 2018).

4.4.9. Resistencia a Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas (MLS)

Son aquellos que inhiben la síntesis proteica de las bacterias al unirse a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. La resistencia de este tipo de antibióticos se ve codificada por genes expuestos en plásmidos producido específicamente por dos mecanismos (Carroll et al., 2019)

El primer mecanismo es el eflujo por medio de las bombas de expulsión, mismas que cumplen con la codificación del gen msrA, siendo específico para macrólidos y estreptograminas. Es importante hacer mención a la clindamicina misma que no es sustrato de estas bombas, por ende, las cepas de este fenotipo presentando resistencia a eritromicina y sensibilidad respectiva a clindamicina, conocido como en fenotipo M (Carroll et al., 2019)

Como segundo mecanismo, cuenta con el resistente a la modificación del sitio de unión del antibiótico por metilación, emitiendo una codificación por el gen erm, causando cambios conformacionales en el ribosoma, mismos que impiden la unión de macrólidos, lincosamidas y

estreptograminas, produciendo de esta manera la resistencia cruzada entre los antibióticos, mecanismo denominado fenotipo MLS (Carroll et al., 2019)

4.4.9.1. Detección Fenotípica de resistencia a MLS

Cuenta con dos métodos por los cuales se puede determinar la sensibilidad, por difusión o determinación de la CIM, mientras que para la detección de resistencia inducible a clindamicina se realiza el test de difusión de doble disco (D-test) o ya sea el otro método por microdilución.

El primer método D-test es realizado por colocación de discos de eritromicina mostrando halos de inhibición resistentes ≤ 13 mm y clindamicina ≤ 14 mm, contando con una distancia entre 15 y 20 mm de borde a borde en una placa de agar Mueller-Hinton, inoculado con anterioridad en una suspensión de microorganismos, posteriormente de las 16 a 18 horas de incubación se notará el achatamiento del halo de clindamicina del lado que enfrenta al disco de eritromicina, observando un efecto zona D, el cual indica un fenotipo de resistencia inducible (Castro et al., 2017)

4.4.10. Resistencia a Daptomicina

La daptomicina es un lipopéptido que cuenta con una gran capacidad bacteriana frente a un extenso grupo de organismos de tipo grampositivo, esto se debe a la unión de cationes de calcio con la formación de un complejo cargado positivamente, esta interacción es relevante ya que el complejo daptomicina-calcio con la membrana celular bacteriana altera la permeabilidad plasmática bacteriana conduciendo hacia una muerte celular (Castro et al., 2017)

Esta resistencia se da por la aparición de mutaciones puntuales en diferentes genes dando lugar a cambios fenotípicos consistentes en aumento de la carga positiva de la superficie y engrosamiento de la pared bacteriana, frecuente de estas mutaciones corresponde al gen *mprF*, que codifica una enzima que se encarga de la adición de lisina (aminoácido de carga positiva) a residuos de fosfatidilglicerol en la membrana celular, de la misma manera la mutación del gen *mprF* aumenta la expresión de la enzima y origina un incremento de la carga positiva en la membrana celular que repele eléctricamente al complejo daptomicina-calcio (Carroll et al., 2019)

Es de suma relevancia mencionar que la prevalencia de *S. aureus* resistente a daptomicina es relativamente baja en Estados Unidos de 0,04% en Europa y Latinoamérica es de 0,01% (Ríos et al., 2021)

4.4.10.1. Detección Fenotípica de la resistencia a Daptomicina.

La sensibilidad de *S. aureus* a daptomicina, se procede a determinar la CIM por microdilución en medio líquido o E-test con el agregado de calcio. Para su realización debe aplicarse el método de difusión con discos esto debido a su alto peso molecular el cual no permitirá una correcta difusión de la molécula en el agar. Dando lugar a una falsa sensibilidad, el punto de corte para considerar una cepa como sensible es ≤ 1 ug/ml (Ríos et al., 2021)

4.4.11. Resistencia a Linezolid

La resistencia se representa por medio de tres mecanismos mismos que alteran la diana del antibiótico y afectan a su unión ribosomal.

Mutaciones nucleotídicas en el ARNr 23S es el mecanismo de resistencia más frecuente, donde los niveles aumentan en función del número de mutaciones esto se debe a que existe una correlación directa entre el número de copias mutadas y el nivel de resistencia al linezolid (Ríos et al., 2021)

Por otra parte, existen mutaciones de los genes que codifican para las proteínas ribosomales L3 y L4 siendo el mecanismo poco frecuente ya que trata sobre una resistencia cruzada a macrólidos y cloranfenicol (Ríos et al., 2021)

La adquisición del gen *cfr* (chloramphenicol-florfenicol resistance) el cual codifica la producción de una metiltransferasa ribosómica, es el único mecanismo transferible por elementos genéticos móviles como por ejemplo los plásmidos (Ríos et al., 2021)

4.4.11.1. Detección fenotípica de la resistencia a Linezolid

La resistencia se verá medida por el gen *cfr*, donde los niveles de CIM por lo general no se muestran muy elevados y por ende no pueden ser detectados con los últimos métodos, en una situación como estas se debe sospechar ante una cepa que presenta resistencia a clindamicina o cloranfenicol y sensibilidad a macrólidos. Es importante tener presente que los aislamientos sensibles a linezolid también lo son para tendizolid. (Ríos et al., 2021)

5. Metodología

5.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Loja, ubicado en el barrio Motupe Bajo parroquia San Juan del Valle; en el Centro de Salud Universitario de Motupe con la recolección de muestras de orina de gestantes, mismas que fueron transportadas de acuerdo a los protocolos de bioseguridad establecidos, para su correcto análisis en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Salud Humana.

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque metodológico

El presente trabajo de integración curricular fue de enfoque cuantitativo de tipo no experimental, de diseño transversal descriptivo.

5.2.2. Técnicas de recolección de datos

5.2.2.3. Fase pre analítica.

Consentimiento informado (Anexo1)

Protocolo para transporte de muestras de orina de la casa de salud motupe al laboratorio de microbiología de la facultad de salud humana (Anexo2)

5.2.2.4. Fase analítica.

Protocolo preparación Müller Hinton (casa comercial y lote) (Anexo 3)

Protocolo para realización de inóculos (Anexo 4)

Protocolo para colocación de discos. (Anexo 5)

Protocolo para realización del control de calidad Cepas ATCC (KWIK STIK lote 335-535-3/360-543-8) (Anexo 6)

Protocolo interpretación del antibiograma. (Anexo 7)

Protocolo detección fenotípica de carbapenemasas. (Anexo 8)

Protocolo para determinación de β -Lactamasa Tipo AmpC (Anexo 9)

Protocolo para la determinación de BLEE mediante discos combinados y sinergia de discos (Anexo 10)

Protocolos para determinación de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (Anexo11)

Protocolo control de temperatura incubadora y congelador (Anexo 12)

Protocolo para eliminación de medios de cultivo (Anexo 13)

5.2.3. Muestra

El presente trabajo de integración curricular contó con un total de 126 muestras de orina de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud Universitario de Motupe en el periodo de mayo-agosto 2022.

5.2.4. Criterios de inclusión

Todas las gestantes que acudieron a la casa de salud en el periodo de mayo-agosto 2022.
Pacientes que firmaron un consentimiento informado.

5.2.5. Criterios de exclusión

Pacientes embarazadas que cursaron con infecciones urinarias de etiología no bacteriana.
Muestras de pacientes que estuvieron con tratamiento antibiótico.
Muestras de pacientes contaminadas con secreción vaginal

5.3. Procesamiento y análisis de datos

5.3.1. Fase post analítica

La validación y el reporte de resultados se realizó con el apoyo de los docentes integrantes de la comisión de vinculación de la carrera de laboratorio clínico y la técnica docente encargada del laboratorio de Microbiología y Parasitología, para en lo posterior remitir a la responsable del laboratorio del centro de salud.

La tabulación de datos se realizó con el programa SPSS Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales versión 21 y se presentó la información mediante tablas según las variables del estudio, analizando los mecanismos de resistencia tanto para gram positivos como para gram negativos, así mismo se utilizó el paquete de office como Excel para la construcción de gráficas de barras de susceptibilidad de agentes etiológicos.

6. Resultados

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados, se recolecto 126 muestras de orina, 69 ameritaron urocultivo de las cuales 17 fueron *Escherichia coli*, una *Klebsiella pneumoniae* y un *Staphylococcus aureus* que ameritaron antibiograma, identificando sus perfiles de susceptibilidad.

En la tabla 1 observamos la susceptibilidad de *Escherichia coli* para ampicilina, cefazolina, cefoxitina, cefuroxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, amoxicilina_acidoclavulánico, piperacilina-tazobactam, aztreonam, ciprofloxacino, nitrofurantoína, trimetropim-sulfa y gentamicina.

Tabla 1

Susceptibilidad de Escherichia coli en ITU en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe en el periodo mayo-agosto 2022

	resistente	R%	sensible	S%	intermedio	I%	total%
AMPICILINA	8	47.1	8	47.1	1	5.9	100.0
CEFAZOLINA	1	5.9	16	94.1		0.0	100.0
CEFOXITINA			17	100.0		0.0	100.0
CEFUROXIMA			17	100.0		0.0	100.0
CEFTRIAXONA	1	5.9	16	94.1		0.0	100.0
CEFTAZIDIMA	1	5.9	16	94.1		0.0	100.0
CEFEPIME	1	5.9	16	94.1		0.0	100.0
AMOXICILINA_ACIDOCLAVULANICO	2	11.8	10	58.8	5	29.4	100.0
PIPERAZILINA_TAZOBACTAM			17	100.0		0.0	100.0
AZTREONAM	1	5.9	16	94.1		0.0	100.0
FOSFOMICINA			17	100.0		0.0	100.0
CIPROFLOXACINA	3	17.6	14	82.4		0.0	100.0
NITROFURANTOINA			15	88.2	2	11.8	100.0
TRIMETROPIN_SULFA	3	17.6	14	82.4		0.0	100.0
GENTAMICINA	3	17.6	14	82.4		0.0	100.0

Tabla 2

Por otro lado, notamos que *Klebsiella pneumoniae* con una sensibilidad a los antibióticos ciprofloxacino, trimetropim-sulfa, gentamicina y amikacina.

	sensible	S%	intermedio	I%	total%
ERTAPENEM	1	100		0.0	100
CIPROFLOXACINO	1	100		0.0	100
NITROFURANTOINA			1	100.0	100
TRIMETROPIN_SULFA	1	100		0.0	100
CEFOTAXIMA	1	100		0.0	100
AZTREONAM	1	100		0.0	100
CEFTAZIDIMA	1	100		0.0	100
CEFEPIME	1	100		0.0	100
GENTAMICINA	1	100		0.0	100
AMIKACINA	1	100		0.0	100
CEFUROXIMA	1	100		0.0	100
PIPERACILINA_TAZO	1	100		0.0	100
CEFTRIAXONA	1	100		0.0	100

Tabla 3

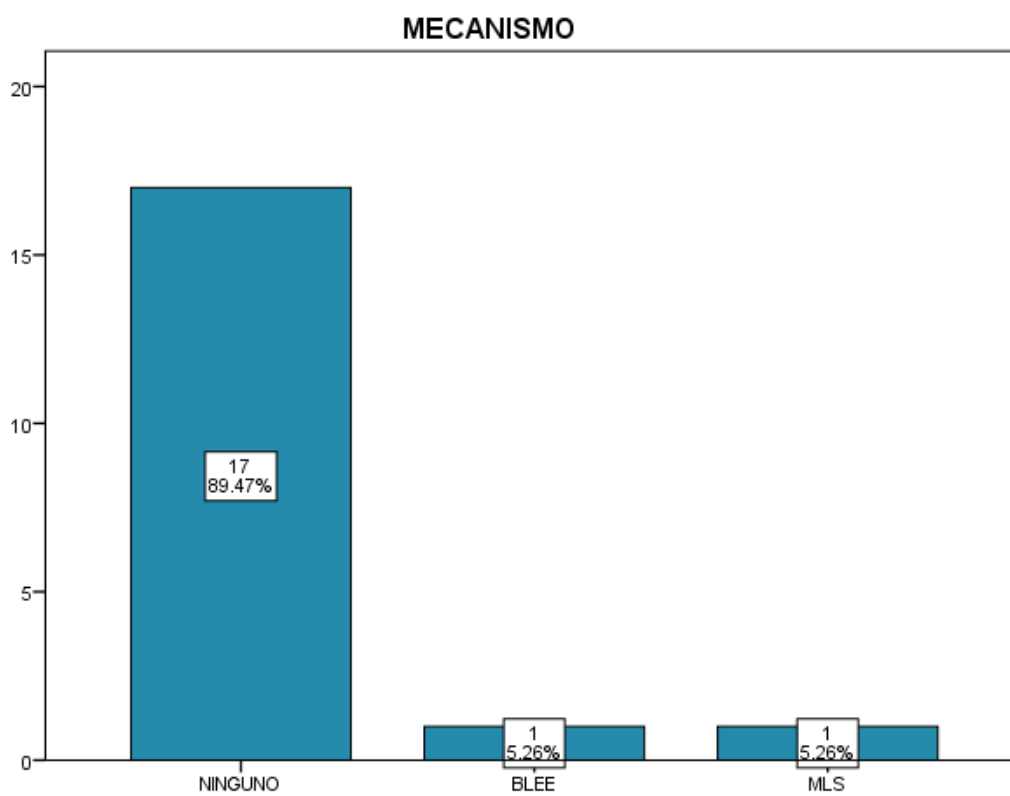
Se determinó la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los discos testeados como penicilina, fosfomicina, trimetropim-sulfa, nitrofurantoína, ciprofloxacino, cefoxitina y oxacilina con sensibilidad al 100%

	resistente	R%	sensible	S%	Intermedio	I%	total%
ERITROMICINA	1	100.0		0.0		0.0	100.0
CLINDAMICINA	1	100.0		0.0		0.0	100.0
PENICILINA		0.0	1	100.0		0.0	100.0
FOSFOMICINA		0.0	1	100.0		0.0	100.0
TRIMETROPIM_SULFA		0.0	1	100.0		0.0	100.0
NITROFURANTOINA		0.0	1	100.0		0.0	100.0
CIPROFLOXACINO		0.0	1	100.0		0.0	100.0
CEFOXITINA		0.0	1	100.0		0.0	100.0
OXACILINA		0.0	1	100.0		0.0	100.0

Por último, identificamos dos mecanismos de resistencias, uno para bacterias gramnegativas productoras de Betalactamasas de Espectro extendido (BLEE) y el otro para bacterias grampositivas correspondiente a Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas (MLS) del total de antibiogramas realizados (Tabla 4).

Tabla 4

Frecuencia de mecanismos de resistencia de ITU de gestantes que acudieron al Centro de Salud Universitario de Motupe en el periodo mayo-agosto 2022



7. Discusión

Las infecciones del tracto urinario son catalogadas como una patología persistente en gestantes, causadas en mayor frecuencia por enterobacterias que al generar diversos mecanismos de resistencia principalmente a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, llegando a ser consideradas como un problema de salud mundial.

En el presente estudio, en lo que se refiere a resistencias de antibióticos, *E. coli* se caracterizó por desarrollar resistencias a ampicilina con un 47.1% seguido de ciprofloxacino, trimetropim-sulfa y gentamicina con 17.6%, amoxicilina- ácido clavulánico con 11.8% y finalmente cefazolina, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, aztreonam con el 5.9% correlacionando con el estudio de Quintero J, (2020), donde *E. coli* muestra resistencia a ampicilina en un (45.4%), cefazolina (6.6%), así mismo Romero et al., (2019) menciona un incremento en la resistencia a ampicilina (58.62%) y sulfa/trimetropin (37.93%), estos resultados son semejantes a nuestro estudio salvo en que Romero menciona un incremento en ampicilina y trimetropin esto se puede deber a que las pacientes no reciben un tratamiento antibiótico correcto para contrarrestar su infección o por que el medicamento no fue administrado con la dosificación correcta y por el tiempo recomendado causando que las bacterias presenten mecanismos de resistencia.

Además, en esta especie bacteriana se encontró un mecanismo de resistencia de tipo BLEE en un 5.26%, al igual que el estudio de Delgado-Arévalo et al., (2020) donde reportaron la presencia de BLEE con un porcentaje del 16.3%, este mecanismo de resistencia según lo mencionan algunos autores adquieren las bacterias gram negativa de manera extracromosómica procedente de otras bacterias, produciendo enzimas que hidrolizan las C3G y C4G e incluso monobactámicos, evitando que estos se unan a las proteínas fijadoras (PBP) causando así resistencias.

Otro agente etiológico aislado, en un solo caso, fue *Klebsiella pneumoniae* la cual evidencio una sensibilidad a al 100% para los antibióticos de trimetropim-sulfa, cefotaxima, aztreonam, ceftazidima, cefepime, gentamicina, amikacina, cefuroxima, piperacilina-tazobactam ceftriazona y una sensibilidad intermedia al 100% de nitrofurantoína, este resultado se corrobora con el estudio de Nocua-Báez et al., (2017) los cuales refieren la misma resistencia a dicho antibiótico para corroborar su resistencia intrínseca (ampicilina) y muestra una sensibilidad al 100% para ciprofloxacino, trimetropin-sulfa y para nitrofurantoína, de la misma manera Herrera & Gómez, (2018) encontró una sensibilidad del 98.2% y un 1.8% de sensibilidad intermedia.

Finalmente, en el caso de *Staphylococcus aureus* se identificó resistencia a eritromicina y clindamicina y una sensibilidad del 100% para penicilina, trimetropim-sulfa, oxacilina, nitrofurantoína, fosfomicina y ciprofloxacino de igual forma en el estudio de Parra et al., (2016) muestra una resistencia a los antibióticos antes mencionados, misma que nos habla sobre la prescripción y uso inadecuado de los mismos, mostrándose resistencia inducible misma que conduce a una falla del tratamiento con clindamicina. Con estos resultados podemos inferir que esta bacteria desarrollo un mecanismo de resistencia tipo MLS, así mismo este mecanismo de resistencia de tipo adquirida se da por la incorporación de plásmidos al material genético de la bacteria, lo que se expresa en bombas de expulsión y modificación del sitio de unión del antibiótico por metilación, esto explicaría que la eritromicina causa un efecto inducible en clindamicina.

8. Conclusiones

- Se identificó la susceptibilidad de *Escherichia coli* con un porcentaje del 100% cefoxitina, cefuroxima y piperacilina-tazobactam con el 96.1% cefazolina, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime y aztreonam, con el 88.2% nitrofurantoína, con el 82.4% ciprofloxacina, trimetropim-sulfa, gentamicina, con el 58.8% amoxicilina y ácido clavulánico finalmente con el 47.1% ampicilina. En *Klebsiella* al 100% trimetropim-sulfa, cefotaxima, aztreonam, ceftazidima, cefepime, gentamicina, amikacina, cefuroxima, piperacilina-tazobactam ceftriaxona y una sensibilidad intermedia al 100% de nitrofurantoína, mientras en el caso de *Staphylococcus aureus* una sensibilidad del 100% para penicilina, trimetropim-sulfa, oxacilina, nitrofurantoína, fosfomicina y ciprofloxacino.
- Se determinó dos mecanismos de resistencia, en gram negativos una BLEE y en gram positivos una MLS con un 5.26% en ambos casos.

9. Recomendaciones

- Se recomienda difundir a todo el personal de salud del Centro de Salud Universitario de Motupe tener en cuenta el reporte del laboratorio clínico para tratamiento de ITU en pacientes embarazadas ya que presentan mayor resistencia y será un tratamiento ineficaz llegando a causar una posible multirresistencia en un futuro.
- Considerando que la resistencia bacteriana es un problema a nivel mundial, se debe realizar campañas de educación para la salud sobre el uso de antibióticos, evitando complicaciones que generen riesgos mayores, sobre todo para las poblaciones más vulnerables como lo son las pacientes embarazadas, debido a la automedicación e interrupción del tratamiento recetado por el personal médico.

10. Bibliografía

- Aguayo Reyes, A., Quezada-Aguiluz, M., Mella, S., Riedel, G., Opazo-Capurro, A., Bello-Toledo, H., Domínguez, M., & González-Rocha, G. (2018). Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista Chilena de Infectología*, 35(1), 7–13.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000100007>
- Astocondor Salazar, L. (2018). BETALACTAMASAS: LA EVOLUCIÓN DEL PROBLEMA. *Revista Peruana de Investigación En Salud*, 2(2), 42–49.
<https://doi.org/http://revistas.unheval.edu.pe/index.php/repis/article/view/224/211>
- Bello, Z., Cozme Rojas, Y., Gallart Cruz, A., & Pacheco Pérez, Y. (2016). Resistencia antimicrobiana en pacientes embarazadas con Urocultivo positivo, Hospital Guevara, Las Tunas agosto a noviembre 2016. *Elsevier España*, 20(2).
- Carlos G. Malbrán. (2022). *NOVEDADES 2022*. http://antimicrobianos.com.ar/category/novedad_clsi/
- Carroll, K., Morse, S., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). *MICROBIOLOGÍA MÉDICA* (S. A. D. C. V. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, Ed.; 27 ava Edi). McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- Castro, L. T., Torres, M. I., Castañeda, L. M., López, D. P., & Prada, C. F. (2017). Caracterización fenotípica de bacilos Gram negativos con betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *REVISTA DE INVESTIGACIÓN EN SALUD. UNIVERSIDAD DE BOYACÁ*, 2(2), 116–130.
<https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/132/128>
- Cercenado, E., & Saavedra, J. (2019). El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales. *Elsevier*, 7(4), 214–217.
- Delgado-Arévalo, K. J., González-Habib, R., Castro-Torres, I., Bennett-Vidales, G., & Cruz-De la Cruz, C. de la. (2020). Screening of group B Streptococcus during pregnancy: current behavior in a third level center. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 88(2), 127–129.
<https://doi.org/10.24245/gom>
- Fariñas, M., & Martínez. (2017). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Elsevier Doyma*, 30(1), 1–8.
- Ferreira, E., Olaya, X., Zúñiga, P., & Angulo, M. (2017). INFECCIÓN URINARIA DURANTE EL EMBARAZO, PERFIL DE RESISTENCIA BACTERIANA. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 56(3), 239–243.

- García, A., Martínez, C., Juárez, R. I., Téllez, R., Paredes, M. A., del Rocío Herrera, M., & Giono, S. (2019). Methicillin resistance and biofilm production in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* in Mexico. *Biomedica*, 39(3), 1–11.
<https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.4131>
- Gastelo Acosta Rosy, & Vargas Rosy. (2018). *Mecanismos de resistencia bacteriana*.
- González, F. C., Ortiz, J. B., Elena, Q. C. J., & Cedeño, N. V. (2019). Infección del tracto urinario por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). *Revista Arbitrada Interdisciplinaria de Ciencias de La Salud*. S, 3(1), 124–138.
<https://doi.org/https://fundacionkoinonia.com.ve/ojs/index.php/saludyvida/article/view/453>
- Katheryne Mihquero. (2018). *Susceptibilidad antimicrobiana de klebsiella spp causante de infecciones de vías urinarias en usuarios del laboratorio clínico de en usuarios del laboratorio clínico de Medilab*. <https://bit.ly/33OSkvD>
- Lespada, M. I. (2018). Resistencia Microbiana. *Oceano Medicina*, 1(1), 5–56.
- Mejía, P. J. N., Alarico, M. J. L., Guerrero, J. C. V., & Azabache, J. C. B. (2021). Caracterización clínica de infecciones de tracto urinario producidas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 40(1), 1–11.
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., & Fernández-Cuenca. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524–534. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2011.03.011>
- Nocua-Báez, L. C., Cortés-Luna, J. A., Leal-Castro, A. L., Arias-León, G. F., Ovalle-Guerro, M. V., Saavedra-Rojas, S. Y., Buitrago-Gutiérrez, G., Escobar-Pérez, J. A., & Castro-Cardozo, B. (2017). Anti-microbial sensitivity of enterobacteria identified in community-acquired urinary tract infection in pregnant women in 9 Colombian hospitals. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 68(4), 275–284. <https://doi.org/10.18597/rcog.928>
- Novales, M. G. M. (2011). Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* en México. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 68(4), 242–249.
- Parra, G. I. M., Giovanetti, M. C. Y., & Hernández, A. Z. (2016). Phenotype resistance to methicillin, macrolides and lincosamides in staphylococcus aureus, isolated in a hospital in Valledupar, Colombia. *Revista Ciencias de La Salud*, 14(2), 223–230.
<https://doi.org/10.12804/revsalud14.02.2016.07>

- Pietro, F. (2018). Farmacocinética y Biofarmacia. In G. Mosca (Ed.), *Aspectos Clínicos y Tecnológicos* (1st ed., pp. 138–194). Gráfica Mosca.
- Prat, M. (2018). Recomendaciones para detección carbapenemasas en enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa. *Instituto de Salud Pública*, 32(1), 2–26.
- Quintero Arrieta Jorge Fernando. (n.d.). *Informe Final Jorge Quintero junio 2020* [2020].
- Redlab. (2021). Detección Fenotípica De Enterobacterias Productoras De Carbapenemasas Y Pruebas De Hidrólisis Antibiótica (Carbapenémico) E Inmuncromatográficas Protocolos Red De Laboratorios Para La Vigilancia De Los Microorganismos. *Redlabra*.
- Ríos, A. D., Donis Alvarado, B., & Rodríguez Ortiz, K. (2021). *EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.
- Romero, K. v, María Murillo, F. A., Salvent, A. T., & Vega, V. F. (2019). Trabajos Originales. *REV CHIL OBSTET GINECOL*, 84(3), 169–178.
- Silva, L. E., Mendoza, O. E., & Nuñez Garcia, J. F. (2018). Características y factores de riesgo de la infección de vías urinarias con cultivo positivo para betalactamasas de espectro extendido. *Infectio*, 22(3), 147–152.
- Viquez, M., Chacón, C., & Rivera, S. (2020). Infecciones del tractourinario en mujeres embarazadas. *Revista Médica Sinergia*, 5(5), 9–12.
<https://doi.org/https://doi.org/1https://doi.org/10.31434/rms.v5i5.4820.31434/rms.v5i5.482>
- Werth, B. (2020). *Carbapenemasas*. Manual MSD. <https://www.msmanuals.com/es-es/hogar/infecciones/antibióticos/fármacos-carbapenémicos>

11. Anexos

Anexo 1 Oficio de pertinencia y aprobación del proyecto de integración curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0026 - CLC-FSH-UNL
Loja, 10 de enero de 2022

Licenciada
Iliana Alicia Delgado,
**DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE
LASALUD HUMANA-UNL.**
Ciudad. -

De mi consideración:

Con un cordial y atento saludo me dirijo a usted, con la finalidad de comunicarle que de acuerdo al Art. 224 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, para la Presentación del proyecto de investigación (Proyecto de Trabajo de Integración Curricular) "... El docente de la asignatura, taller o unidad de integración curricular/titulación, será responsable de la formación y acompañamiento metodológico; y, el asesor de proyecto, orientará con pertinencia y rigurosidad la parte científico-técnica de la investigación y, en el caso de las carreras, también gestionará el aporte de las diferentes asignaturas, cursos o equivalentes de la carrera, al trabajo de integración curricular. En ambos casos, la orientación que se proporcione al estudiante observará lo previsto en los proyectos curriculares para la unidad de integración curricular/titulación y en el presente Reglamento y Art- 225 "...Director de Carrera o Programa designará un docente con conocimiento y/o experiencia sobre el tema que podrá ser el que asesoró su elaboración para que emita el informe de estructura, coherencia y pertinencia del proyecto...", por lo cual se le ha designado para que dé informe de pertinencia al trabajo de la estudiante: **CARCHI FLORES MARÍA BELÉN**, con el tema "FENOTIFICACION DE AGENTES ETIOLÓGICOS EN MUESTRAS DE ORINAS EN PACIENTES EMBARAZADAS DEL CENTRO UNIVERSITARIO MOTUPE", en su Artículo 225 del Reglamento de Régimen Académico.

Aprovecho la oportunidad para expresar mis sentimientos de consideración y estima personal e institucional.

Atentamente,



Firmado digitalmente por:
**SANDRA
ELIZABETH
FREIRE CUESTA**

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

CC. Archivo
María del C. Salazar L.

072 -57 1379 Ext. 102
Calle Manuel Monteros,
tras el Hospital Isidro Ayora - Loja - Ecuador



Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

FECHA: 23 de septiembre de 2022

DE: Lcda. Ivanova del Cisne Zúñiga Román, DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PARA: Dra. Sandra Freire Cuesta, DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FSH-UNL.

ASUNTO: **CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.**

CERTIFICO:

Que una vez asesorada, monitoreada con pertinencia y rigurosidad científica la ejecución del trabajo de integración curricular del tema: "Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe" de la autoría de María Belén Carchi Flores, el mismo cumple con las disposiciones institucionales, metodológicas y técnicas, que regulan esta actividad académica; consecuentemente, dicho trabajo de integración curricular se encuentra **culminado y aprobado**, por lo que autorizo continuar con el proceso de titulación.



Firmado electrónicamente por:
**IVANOVA DEL
CISNE ZUNIGA
ROMAN**

.....
Lcda. Ivanova del Cisne Zúñiga Román M. Sc.
Directora del trabajo de Integración Curricular



Loja, 16 de noviembre de 2022

CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN

El suscrito *Coordinador Académico Javier Mauricio Agila Salazar* de la Academia de Idiomas "Enjoy English" con No. de Registro: **1246581**.

HACE CONSTAR:

Que respondiendo a lo solicitado por la señorita **Maria Belén Carchi Flores** quien se identifica con número de cédula: **0707120069**, se ha realizado la respectiva traducción del idioma español al idioma inglés el resumen correspondiente al trabajo de investigación "Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe".

Se expide el presente documento, de acuerdo a Ley, para los fines que el interesado crea conveniente.

Atentamente,



JAVIER
MAURICIO AGILA
SALAZAR



Mgs. Javier Agila Salazar.
COORDINADOR ACADÉMICO

Anexo 4 Protocolo consentimiento informado

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo 2022	PROTOCOLO CONSENTIMIENTO INFORMADO	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO CONSENTIMIENTO INFORMADO

Objetivo:

Explicar los procedimientos para la obtención de muestras para el estudio de gestantes embarazadas

Alcance:

Este procedimiento presenta información práctica y aplicable para el técnico operador del área de microbiología

Definiciones:

El consentimiento informado es un documento informativo en donde se invita a las personas a participar en una investigación.

Estructura:

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 tomaran la muestra con las respectivas indicaciones para una correcta toma de muestra y de esa manera poder realizar correctamente el análisis, mismo que se llevara 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 está 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 preñado 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**

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO TRANSPORTE DE MUESTRAS	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO TRANSPORTE DE MUESTRAS

Objetivo:

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

Alcance:

Este procedimiento presenta información práctica y aplicable para el técnico operador del área de microbiología

Materiales:

- Cooler hermético
- Tubos de 10 ml
- Corchos estériles
- Gradilla para tubos


Definiciones:


El control del transporte de muestras proporcionará valor a las muestras asegurando la calidad y estabilidad para obtener resultados confiables y oportunos ya que un manejo incorrecto de sustancias con agentes infecciosos puede ocasionar morbilidad y mortalidad

Responsable: Tesista, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico

Procedimiento:

- Una vez analizada las muestras de orina en el laboratorio clínico del Centro de Salud Universitario de Motupe
- Se transportan las alícuotas de orina previamente rotuladas, para el correcto procesamiento de las pruebas complementarias en laboratorio de Microbiología y Parasitología
- El transporte se debe realizar en lapso de 2 horas desde la recepción de la muestra de orina

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PREPARACIÓN MÜLLER HINTON	Código: 0003
		Versión: 0001

PROTOCOLO PREPARACIÓN MÜLLER HINTON

Objetivo:

Describir el procedimiento de preparación de agar Mueller Hinton, para siembra a partir de un cultivo puro y fresco.

Alcance:

El presente procedimiento posee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología.

Definiciones:

El medio de cultivo Mueller-Hinton es un medio líquido nutritivo utilizado para el estudio de la sensibilidad de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas frente a agentes antimicrobianos.

Responsable: Tesista, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico

Descripción del procedimiento:

Los procedimientos descritos a continuación, mismos que pueden ser aplicados para la preparación del agar Mueller Hinton.

1. Homogeneizar el polvo que contiene el frasco
2. Suspender 38,0 gramos en 1000 ml agua destilada.
3. Calentar a fuego lento para disolver el medio completamente.
4. Esterilizar en autoclave a 15 lbs presión (121°C) durante 15 minutos.
5. Enfriar a 45-50°C
6. Dispensar en placas de Petri estériles. MENDELEY CITATION PLACEHOLDER 0

Recursos materiales:

- Material suministrado: Medio Mueller-Hinton.(Fariñas & Martinez, 2017)
- Balanza electrónica


- Agua destilada
- Paletas
- Pilas
- Cajas Petri
- Cocineta eléctrica
- Matraz de 1000 ml
- Corchos para matraz
- Autoclave
- Mecheros

Indicaciones previas para dispensación en cajas petri:

Contar con la correcta esterilización y prender de 2 a 3 mecheros con llama alta para evitar la contaminación de la caja petri dispensada de agar Mueller.

Bibliografía:

Fariñas, M., & Martinez. (2017). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Elsevier Doyma*, 30(1), 1–8.

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 <p>Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN</p>

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA REALIZACIÓN DE INÓCULOS	Código: 0004
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA REALIZACIÓN DE INÓCULOS

Objetivo:

Conocer la turbidez de la suspensión bacteriana.

Alcance:

El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología.

Responsable: Tesista, estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Recursos materiales:


- Tubos de 10 ml
- Jeringa de 5 ml
- Corchos estériles ajustables a tubos de 10 ml
- Agua destilada
- Autoclave

Descripción:

1. Se coloca 3ml de agua destilada en cada tubo de 10 ml
2. Se coloca con el corcho totalmente estéril para evitar que microorganismos ajenos al inóculo contaminen el medio
3. Se autoclave por 1 hora
4. Se conserva el refrigerador a una temperatura de 4-8°C
5. Su máximo de vida útil es de 1 semana

Bibliografía:

Fariñas, M., & Martínez. (2017). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Elsevier Doyma*, 30(1), 1–8.

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA COLOCACIÓN DE DISCOS	Código: 0005
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA COLOCACIÓN DE DISCOS

Objetivo:

Describir el procedimiento para colocación de discos en agar Mueller Hinton para realización de antibiograma.

Alcance:

El presente procedimiento posee información práctica y aplicable para los encargados trabajo de integración curricular en el área de microbiología.

Definiciones:

Determinar la sensibilidad de un microorganismo causante de infección a los distintos antimicrobianos, fundamental para dirigir la conducta terapéutica apropiada para el paciente.

Responsable: Tesista estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Descripción del procedimiento:

1. Dependiendo el tipo de bacteria identificada se realizará la colocación de discos
2. A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas coger varias colonias de agar sangre con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland
3. Agitar en Vortex durante 15-20 min.
4. Estriar la placa 3 veces con el inóculo antes preparado
5. Depositar en la superficie de agar de una placa petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos
6. El disco impregnado de antibiótico tendrá contacto con la superficie húmeda del agar y el filtro absorberá el agua y el antibiótico se difunde en el agar
7. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición
8. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o

resistente (R) según las categorías establecidas por el manual del CLSI 2022

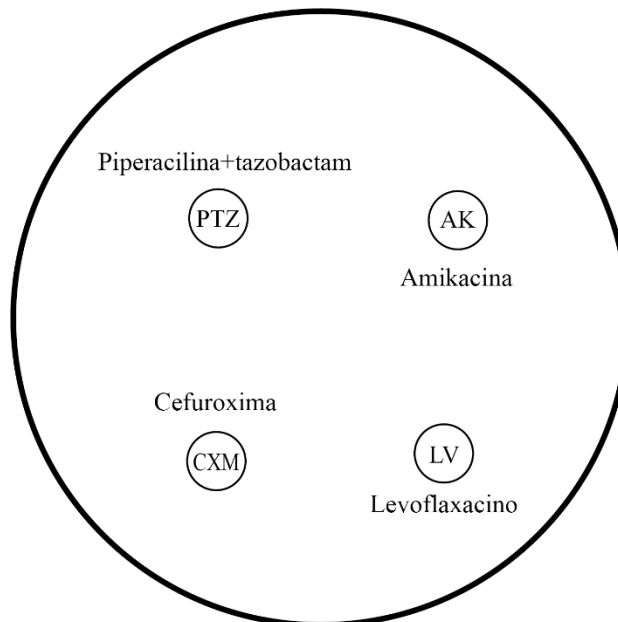
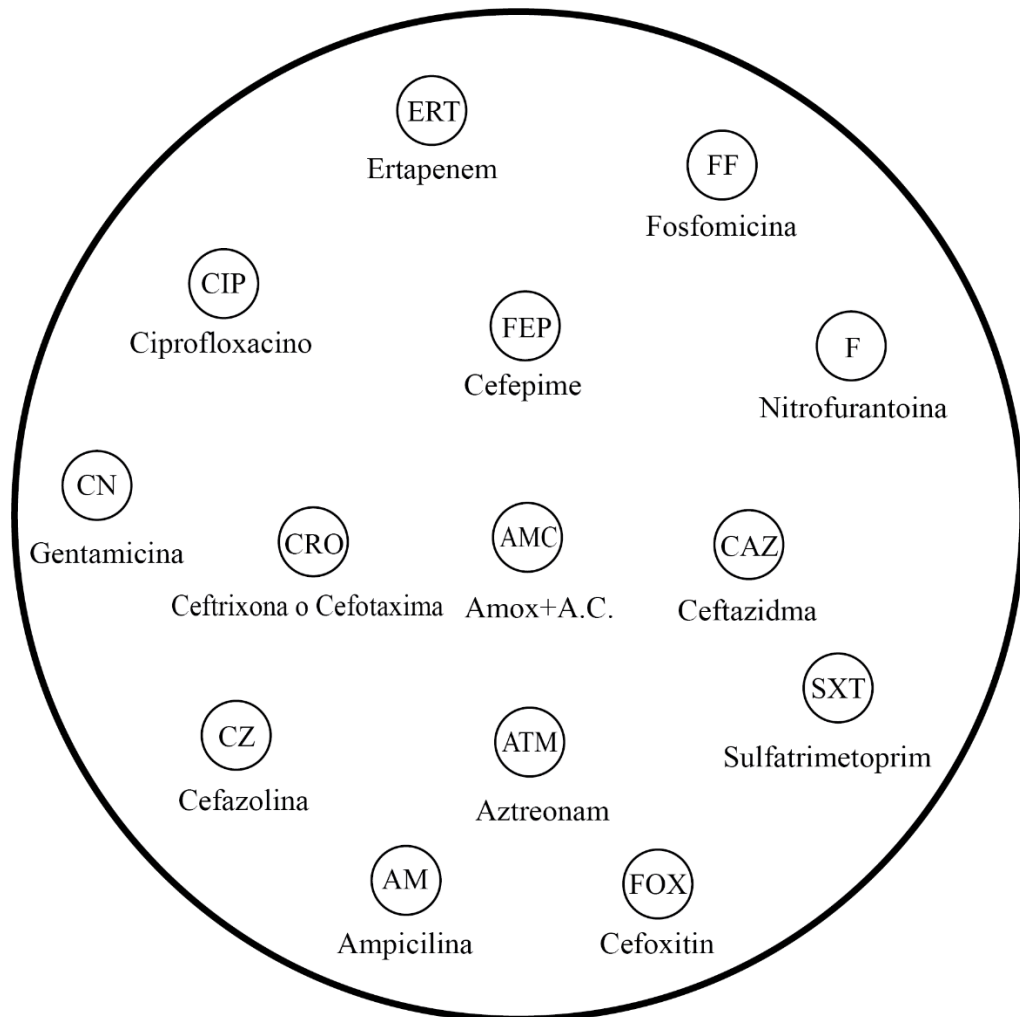
Recursos materiales:

- Cajas petri con medio agar Mueller-Hinton
- Caja petri con agar sangre
- Discos con gramaje de antibiótico
- Inóculo
- Densitómetro
- Hisopos estériles
- Mechero
- Pinza metálica
- Rotulador

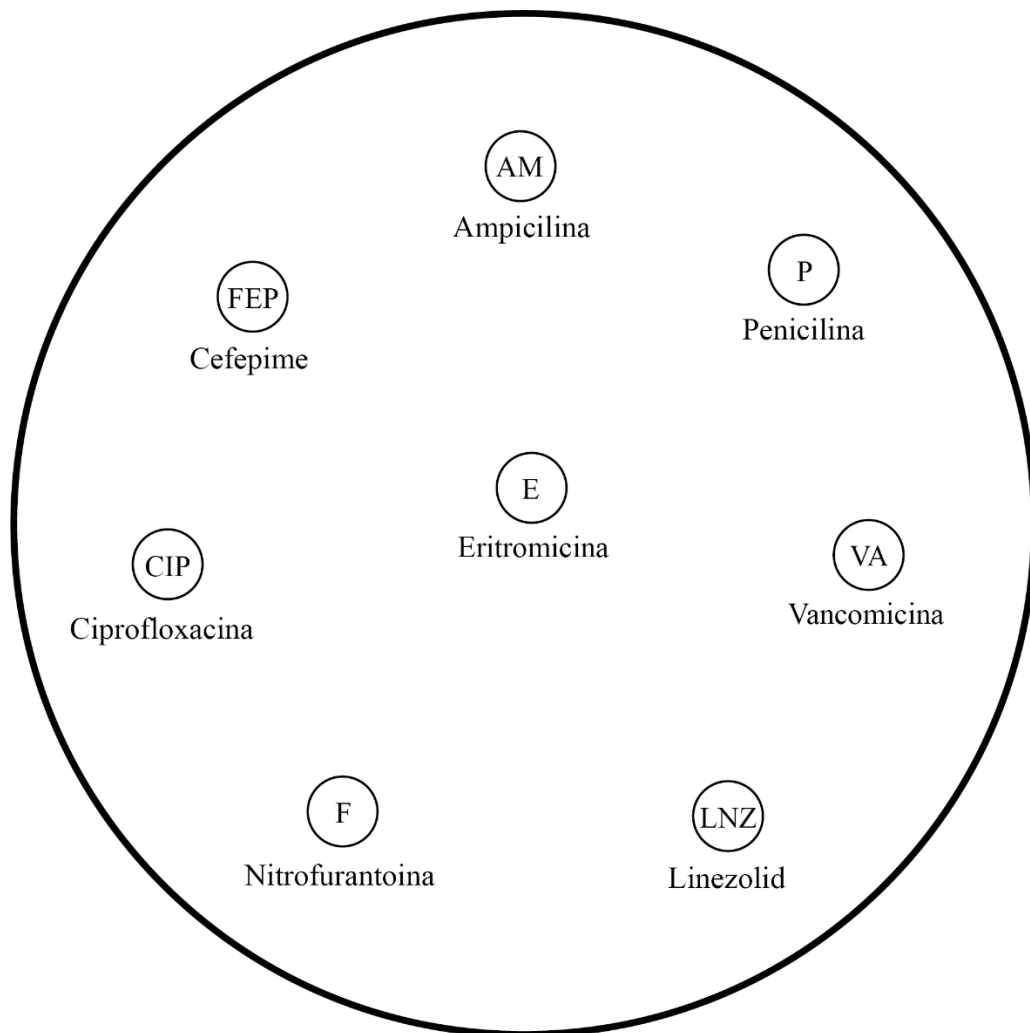
Precauciones para colocación de discos:


- Los discos deben ser conservados a una temperatura de 2-8°C
- Para realización del antibiograma tanto el medio de cultivo como los discos deben mantenerse a temperatura ambiente por al menos 30 min.

Plantillas ubicación de discos gram negativos



Plantillas ubicación de discos gram positivos



Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 <p>Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN</p>

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA REALIZACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD CEPAS ATCC	Código: 0006
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA REALIZACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD CEPAS ATCC

Objetivo:

Establecer el correcto procedimiento para activación y conservación de las cepas de control ATCC KWIK STIK lote 335-535-3/360-543-8

Alcance:

El presente procedimiento posee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología garantizando su correcta realización.

Definiciones:

Las Cepas ATCC son herramientas indispensables para el control de calidad en los laboratorios microbiológicos, son microorganismos certificados utilizados en diferentes disciplinas, para el control de calidad en microbiología.

Responsable:

Tesista estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Descripción del procedimiento:

Escherichia coli ATCC 25922/Staphylococcus aureus ATCC 25923


1. Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
2. Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquesela a la placa de cultivo principal. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
3. Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante.
4. Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
5. Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta

lograr una suspensión homogénea.

6. De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transfíralo al medio con agar sangre de cordero, en agar MacConkey y agar EMB para *E. coli*
7. En el caso de *Staphylococcus aureus* se deberá saturar el hisopo sobre el agar sangre y agar manitol salado.
8. A las 18-24 horas de incubación se obtiene cepas aisladas para el control de calidad en agar Mueller Hinton para realizar las pruebas piloto en los discos con el gramaje adecuado y el medio con las características óptimas.
9. Se debe coger de una sola colonia de agar sangre con un hisopo totalmente estéril y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland.
10. Agitar en Vortex durante 15-20 min.
11. Estriar la placa 3 veces con el hisopo estéril cargado de solución.
12. Depositar en la superficie del agar Mueller Hinton discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos con ayuda de una pinza metálica totalmente estéril.
13. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición.
14. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el manual del CLSI 2022
15. En este caso como son cepas control su reporte será Sensible a todos los discos, garantizando el gramaje adecuado y validación de cada disco.

Recursos materiales:

- Cabina de bioseguridad
- Incubadora
- Inóculos estériles
- Hisopos estériles
- Densitómetro
- Mechero
- Rotulador
- Cajas petri con agar Mueller Hinton
- Discos con gramaje de antibiótico tanto para gram positivos como negativos

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA	Código: 0007
		Versión: 0001

PROTOCOLO INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA

Objetivo:

Conocer la sensibilidad de una bacteria aislada en agar Mueller Hinton y con discos de antibióticos

Alcance:

El presente procedimiento posee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología garantizando su correcta realización.

Definiciones:

Desde hace casi cincuenta años los estudios de sensibilidad a los antimicrobianos en los laboratorios españoles se han guiado fundamentalmente por los estándares recomendados desde el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) el cual ayuda a determinar la susceptibilidad de los antimicrobianos, catalogándolos como Sensibles, intermedios o resistentes para ciertos medicamentos testeados en la placa petri.

Responsable:

Tesista estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Recursos materiales:

- Regla graduada en mm
- CLSI 2022
- Hojas para realizar el reporte

Descripción:


Según las categorías interpretativas contamos con:

Sensible: reportada con una S, demostrando que hay una infección debido a una cepa, misma que puede ser apropiadamente controlada con la dosis de algún agente antimicrobiano.

Intermedio: reportada con una I, involucra aislamientos con agentes antimicrobianos con una concentración mínima inhibitoria, misma que se aproxima a nivel de tejido y sangre.


Resistente: su reporte es con una R, la cual trata de cepas resistentes no son inhibidas por la concentración sistémica alcanzable de un agente cuando los esquemas de dosificación normal son usados.

Plantilla reporte de antibióticos:

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA VINCULACIÓN CON LA SOCIEDAD							
HOJA DE TRABAJO DE BACTERIOLOGIA							
CODIGO							
# HC							
NOMBRES:						EDAD:	
FECHA DE SIEMBRA:						PROCE DENCIA:	
MUESTRA DE:							
TERAPIA ANTIMICROBIANA:							
PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA GRAM NEGATIVOS (ENTEROBACTERIAS)							
Lactosa:		TSI:		Urea:		Lisina:	Oxida sa:
Citrato:		SIM:		EMB :		Indol:	
PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA GRAM POSITIVO							
Catalasa:		Coagulasa:		Trim etropi n/sulf a:			
Manitol:		Optoquina:		Bacit racin a:			
Novobiocina:				Cefal otina:			
IDENTIFICACIÓN BACTERIANA							
Bacteria Identificada					Bacteria Identificada 2:		
# colonias (UFC):					# colonias (UFC):		
BLEE:					AMPC:		
CAZ/CZC:	CTX/CTC:				TEST D:		

					OXACILINA:	
ANTIBIOGRAMA						
Penicilinas		Cefalosporinas 3era generación			Fluoroquinolonas 2da generación	
Penicilinas		Cefotaxima (CTX)			Ciprofloxacina (CIP)	
cloxacilin (OB)		Ceftriaxona (CRO)			Norfloxacina	
Oxacilina		Ceftazidima (CAZ)				
Ampicilina (AM)						
Glicopéptidos		Cefalosporinas 4ta generación			Fluoroquinolonas 3ra generación	
Vancomicina		Cefepime (FEP)			Levofloxacina	
Macrólidos		Inhibidores betalactamasas			Aminoglucósidos	
Eritromicina		Amoxicilina + Ac. Clavulánico (AMC)			Gentamicina (CN)	
Azitromicinas (AZM)		Ampicilina + sulbactam (SAM)			Amikacina (AK)	
		Piperazilina + tazobactam (TPZ)				
Lincosamidas		Monobactámicos			Tetraciclinas:	
Clindamicina (DA)		Aztreonam (ATM)			Tetraciclinas:	
		Carbapenemes			Doxiciclina	
Oxazolidones		Imipenem			Gliciliclina	
Linezolid		Meropenem			Tigecyclina	
Cefalosporinas 1ra generación					Nitrofurantoinas	
Cefazolina (CZ)		Ertrapenem			Nitrofurantoina (F)	
Cefadroxilo (CFR)		Fosfomicinas				
		Fosfomicinas (FF)			Quinolonas	
Cefalexina		Lipopéptido			Ácido Nalidixico	

		Colistina (CT)			Inhibidores de folato		
Cefalosporinas 2da generación					Trimetropin-sulfa (SXT)		
Cefoxitina (FOX)							
Cefuroxima (CXM)							
Fenicoles							
Cloranfenicol (C)							
Observaciones:							

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 <p>Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN</p>

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASAS	Código: 0008
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA DETECCIÓN FENOTÍPICA DE CARBAPENEMASAS.

Objetivo:

Explicar los procedimientos para la detección de carbapenemasas mediante los métodos descritos a continuación

Alcance:

Este procedimiento presenta información práctica y aplicable para el técnico operador del área de microbiología de la detección fenotípica

Definiciones:

Fármacos carbapenémicos son una subclase de antibióticos llamados antibióticos beta-lactámicos donde se distinguen: doripenem, ertapenem, imipenem y meropenem. Este grupo de fármacos son de amplio espectro es decir se enfrentan a varios tipos de bacterias incluso las que son resistentes a numerosos antibióticos. (Werth, 2020)

Carbapenemasas son enterobacterias productoras de B-lactamasas y tiene la capacidad de hidrolizar carbapenemes, antibióticos de último recurso contra bacterias multirresistentes y se han relacionado a elementos genéticos transferibles. Estas bacterias representan un problema para la salud pública (Navarro et al., 2011)

Dentro de las carbapenemasas de mayor relevancia clínica encontramos tres grupos:

Clase A: de gram importancia epidemiológica, se identifican por la capacidad para hidrolizar carbapenémicos, cefalosporinas, penicilinas y aztreonam.

Clase B: son capaces de hidrolizar carbapenémicos, excepto aztreonam. Su acción es inhibida por el agente quelante EDTA.

Clase D: denominadas oxacilinasas, tiene la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y adicionalmente la oxacilina y cloxacilina.

Responsable:

Tesista estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Recursos materiales:

- Dos tubos con 2 mL de caldo soya
- Sensidiscos de meropenem 10 ug
- Tubo con solución salina
- Placa agar Mueller-Hinton

Descripción del procedimiento:

1. Suspender una asada (10ul) de la cepa con caldo soya tripticasa y mezclar unos 10 a 15 segundos por agitación vortex. Luego con las pinzas estériles se añade el disco de meropenem en la suspensión (asegúrese que quede perfectamente suspendido en el caldo)
2. Incubar por 4horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Preparar una suspensión de la cepa *Escherichia coli* (ATTC 25922) con turbidez. En los primeros 15 min tras la preparación del inóculo de *e. Coli*, inocular la placa de agar Mueller Hinton con ayuda de un hisopo estéril utilizando los pasos para difusión en disco. Luego dejar secar las placas de 3 a 10min antes de colocar el disco de meropenem.
4. Remover con las pinzas estériles el disco de meropenem sobre el agar Mueller-Hinton previamente inoculado en una placa de 100mm (se puede colocar 4 discos) o en 150 mm (8 discos).
5. Invertir las placas de Müller Hinton e incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas.
6. Finalmente, al siguiente día hacer la medición de los halos de inhibición y realice la interpretación (Prat, 2018)



Interpretación y reporte de mCIM

- **Positivo:** Halo de inhibición de 6-15 mm Presencia de colonias pequeñas en la zona de 16-18mm

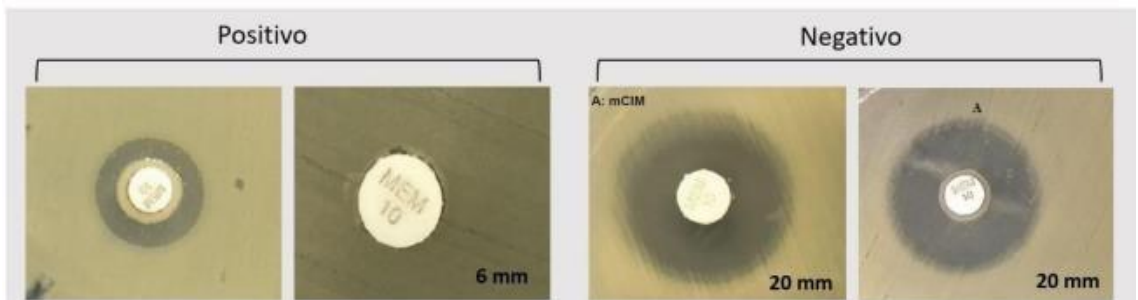
Reporte: Cepa productora de carbapenemasas

- **Negativo:** Halo de inhibición $\geq 19\text{mm}$ (zona de inhibición clara sin ningún tipo de crecimiento)

Reporte: Cepa no productora de carbapenemasas

- **Indeterminado (repetir la prueba):** Halo de inhibición de 16-18mm Halo de inhibición $\geq 19\text{mm}$, pero se observan colonias pequeñas.

Reporte: Inconcluso a la producción de carbapenemasas



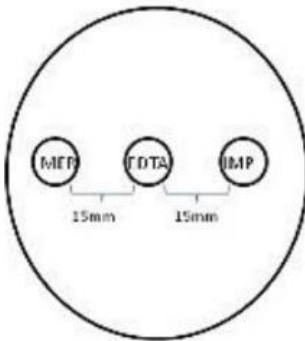
Si el resultado es positivo se debe aplicar los métodos de inactivación por EDTA e inactivación por ácido fenil-borónico (se puede realizar en una sola caja ambos métodos)

2. Método basado en la inhibición por EDTA

Según (Redlab, 2021) se debe realizar lo siguiente:

NOTA: Aplicar si el test de inactivación al carbapenémico da positivo:

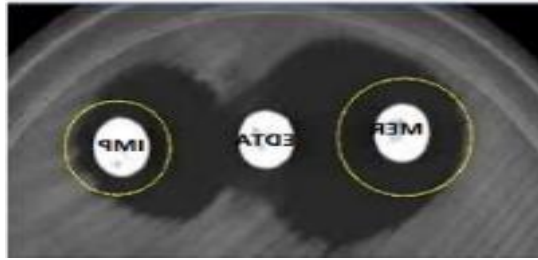
1. Sembrar la cepa a estudiar en una placa de agar Mueller Hinton, en la escala 0,5 Mc Farland, luego se la deja incubar por 5 minutos
2. Aplica sobre la superficie del agar los sensidiscos de Imipenem, EDTA y Meropenem dejando 15 mm de distancia de borde a borde como se observa en la imagen.



3. Incubar de 16 a 20 h a 35 ° C

Resultados:

- **Positivo:** Deformación del halo de los carbapenémicos en dirección al disco EDTA (sinergia) ya que puede ser una cepa productora de (MBL +) metalo – β – lactamasas.



- **Negativo:** No se observa deformación de los halos de los carbapenémicos con un disco con EDTA, no hay sinergia, por lo que esta cepa no es productora de (MBL -) metalo– β -lactamasas

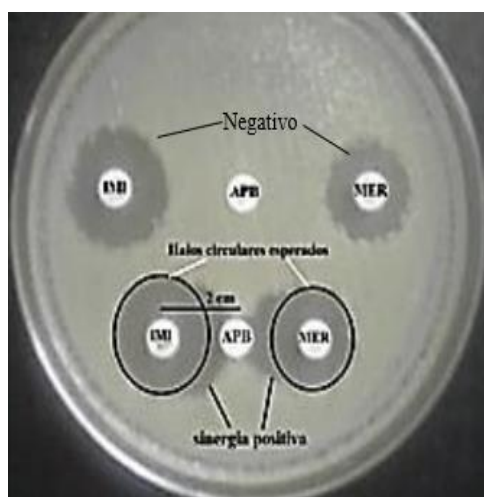
Reporte de resultados: Si es positivo: posible cepa productora de metalobetalactamasas.

Método basado en la inhibición por ácido-fenil-borónico

1. Tomar de la cepa a estudiar algunas colonias (las que sean necesarias), preparar con solución salina estéril a escala 0.5 Mc Farland
2. Inocular la suspensión en el agar Mueller Hinton en 3 sentidos con una distribución que sea homogénea.
3. Colocar el disco de ácido bórico (APB 300 mg) en el centro del agar
4. Colocar los discos de Imipenem, Meropenem y Ertapenem a 15 mm de separación de borde a borde estos deben ir en forma perpendicular
5. Incubar de 18 a 24 horas a 37° C (Cercenado & Saavedra, 2019)

Resultados:

- **Positivo:** el halo de los carbapenémicos esta deformado con dirección al disco del APB, ya que probablemente sea productora de serin – carbapenemasas (KPC+)
- **Negativo:** Halo completo en los carbapenémicos sin sinergia con el disco de APB, ya que la cepa no es productora de serin – carbapenemasas (KPC-)



Reporte de resultados:

➤ **Positivo:** posible cepa productora de serin – carbapenemasas.

Bibliografía:

Cercenado, E., & Saavedra, J. (2019). El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales. *Elsevier*, 7(4), 214–217. <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-pdf-S1696281809719274>

Redlab. (2021). Detección Fenotípica De Enterobacterias Productoras De Carbapenemasas Y Pruebas De Hidrólisis Antibiótica (Carbapenémico) E Inmunocromatográficas Protocolos Red De Laboratorios Para La Vigilancia De Los Microorganismos. *Redlabra*.

https://www.isciii.es/Quehacemos/Servicios/Diagnosticomicrobiológicoyprogramasvigilancia/Documentos/Redlabra-I-003-01_protocolo_Fenotipo_Carba.Pdf


Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., & Fernández-Cuenca. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524–534.


<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2011.03.011>

Prat, M. (2018). Recomendaciones para detección carbapenemasas en enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*. *Instituto de Salud Pública*, 32(1), 2–26.

<https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones para detección carbapenemasas en enterobacterias y pseudomonas aeruginosa..pdf>

Werth, B. (2020). *Carbapenemasas*. Manual MSD. <https://www.msdmanuals.com/es-es/hogar/infecciones/antibióticos/fármacos-carbapenémicos>

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE B-LACTAMASA TIPO AMPC	Código: 0009 Versión: 0001

PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE B-LACTAMASA TIPO AMPC

Objetivo:

Identificar por el método de sinergia de discos la presencia de enzimas AmpC en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.

Alcance:

El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco trabajo de integración curricular; el mismo que asegurará su correcta realización.

Definiciones:

β -Lactamasa AmpC, enzimas que cuando algunas bacterias las portan o producen generan resistencia a ciertos antibióticos betalactámicos hasta cefalosporinas de amplio espectro, pueden ser constitutivas en cuyo caso tienen más potencial de diseminación y pertenecen al grupo C de Ambler. Las AmpC pueden ser cromosómica inducibles están presentes en enterobacterias como: *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp*, *Providencia spp*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, bacterias en las que cuando está presente el mecanismo de resistencia de pérdida de permeabilidad puede confundir el patrón con una BLEE. También pueden ser plasmídicas, se hayan en *Klebsiella spp.*, *P. mirabilis*, *E. coli* y *Salmonella enterica*, entre otras; su prevalencia suele ser relativamente baja (< 2 %), siendo *P. mirabilis* la especie con mayor prevalencia. (Lespada, 2018)

Responsable:

Tesista estudiante de la carrera de laboratorio clínico

Materiales:

- Rotuladores o lápiz graso
- Guantes de nitrilo

- Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro y traje protector interno)
- Cajas Petri con el medio de Mueller Hinton
- Mechero de Bunsen
- Gradillas
- Fósforo
- Pinzas metálicas

Insumos:

- Hisopos estériles
- Alcohol al 70%
- Suero fisiológico
- Asas de platino calibrada (0.01ml)
- Discos de antibióticos

Sinergia de discos: cefotaxima (30ug), ceftazidima (30ug), ácido fenil borónico (400µg)

- Contenedores para desechos cortopunzantes, especiales, comunes e infecciosos

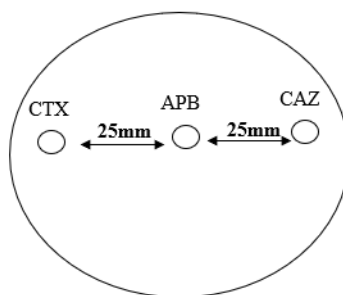
Equipos:

- Cabinas de seguridad
- Incubadora
- Agitador Vortex
- Refrigerador

Determinación de β -Lactamasa Tipo AmpC

Descripción del procedimiento:

1. Rotular con el número de muestra un tubo con 3 ml de suero fisiológico o agua destilada estéril por cada cepa en cultivo puro al que se le vaya a realizar la determinación.
2. Inocular y resuspender homogéneamente cada tubo de suero fisiológico con una colonia del microorganismo problema hasta conseguir una turbidez del 0,5 MacFarland, ajustar si es necesario.
3. Impregnar un hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones.
4. Dejar reposar de 3 a 5 minutos.



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

6. Incubar de 35-37°C durante 16-20 horas. (Lespada, 2018)

Interpretación de resultados para AmpC


Prueba de sinergia de doble discos: examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición.

- **Positivo:** Ampliación del halo de inhibición de cefotaxima o ceftazidima en la zona próxima al disco con ácido borónico (sinergia) o presencia de una “zona fantasma” (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor. El resultado positivo se informará como cepa portadora de AmpC.
- **Negativo:** No ampliación de los halos de inhibición de las cefalosporinas ni presencia de “zona fantasma”. (Katheryne Mihquero, 2018)

Bibliografía:

Córdova, E. (2018). Resistencia en bacilos gramnegativos. In *Oceano Medicina* (Vol. 2, Issue 3, pp. 5–56).

Katheryne Mihquero. (2018). *Susceptibilidad antimicrobiana de klebsiella spp causante de infecciones de vías urinarias en usuarios del laboratorio clínico de en usuarios del laboratorio clínico de Medilab*. <https://bit.ly/33OSkvD>

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE BLEE MEDIANTE DISCOS COMBINADOS Y SINERGIA DE DISCOS	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE BLEE MEDIANTE DISCOS COMBINADOS Y SINERGIA DE DISCOS

Objetivo:

Identificar mediante discos combinados y sinergia de discos la presencia de resistencias bacterianas BLEE en bacterias Gram negativas aisladas de muestras de orina.

Alcance:

El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del trabajo de integración curricular; el mismo que asegurará su correcta realización

Definiciones:

Las BLEE tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia a penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni a carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Los genes que las codifican se encuentran en elementos móviles facilitando su diseminación y con frecuencia presentan resistencia a otros antibacterianos como aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas. Se han desarrollado diversas pruebas fenotípicas para la detección de BLEE, pero la mayoría se basan en la actividad inhibitoria del ácido clavulánico. Entre ellas cabe destacar la técnica de difusión con disco en la que la presencia de una BLEE se sospecha no solo por la resistencia o disminución de los halos de inhibición de algunos o todos los sustratos sino también por el efecto sinérgico producido entre las cefalosporinas de espectro ampliado o los monobactámicos y el ácido clavulánico, cuando previamente se han situado de forma estratégica los discos. (Navarro et al., 2011)

Responsable:

Practicantes en el área de microbiología

Materiales:

- Rotuladores o lápiz graso
- Guantes de nitrilo
- Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro y traje protector interno)
- Cajas Petri con el medio de Mueller Hinton
- Mechero de Bunsen
- Gradillas
- Fósforo
- Pinzas metálicas

Insumos:

- Hisopos estériles
- Alcohol al 70%
- Suero fisiológico
- Asas de platino calibrada (0.01ml)
- Discos de antibióticos

Discos combinados: ceftazidime 30 ug, ceftazidime + ácido clavulánico 30/10 ug, cefotaxime, cefotaxime + ácido clavulánico 30/10 ug.

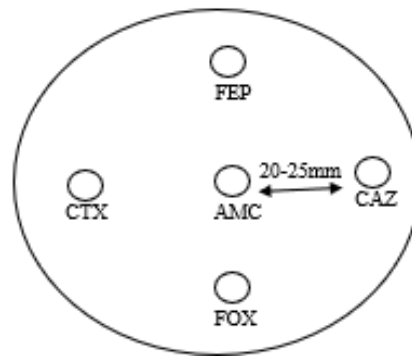
Sinergia de discos: cefotaxime, ceftazidime, cefepime, cefoxitina y amoxicilina / ácido clavulánico

- Contenedores para desechos cortopunzantes, especiales, comunes e infecciosos

Determinación de BLEE mediante sinergia de discos

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

8. Dejar reposar de 3 a 5 minutos.
9. A continuación, se colocan los discos utilizando una pinza previamente flameada y fría y colocar los discos de cefotaxime, ceftazidime, cefepime, cefoxitina y amoxicilina / ácido clavulánico; a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con amoxicilina-ácido clavulánico. La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa. En este sentido solo para *Proteus mirabilis* se recomienda una distancia de 40-45 mm.



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

Interpretación de resultados para BLEE mediante Sinergia de discos

Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición, para ello los resultados se interpretan de la siguiente manera:


- **Negativo.** No ampliación de los halos de inhibición de cefotaxime, ceftazidime, o cefepime ni presencia de "zona fantasma".
- **Positivo.** Ampliación del halo de inhibición de cefotaxime, ceftazidime, cefepime en la zona próxima al disco con amoxicilina-ácido clavulánico (sinergia) o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor. Usualmente el halo se deforma adquiriendo formas ovaladas o con cola de pescado. (Katheryne Mihquero, 2018)


Referencia Bibliográfica:

Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., & Fernández-Cuenca. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524–534.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2011.03.011>

Katheryne Mihquero. (2018). *Susceptibilidad antimicrobiana de klebsiella spp causante de infecciones de vías urinarias en usuarios del laboratorio clínico de en usuarios del laboratorio clínico de Medilab.* <https://bit.ly/33OSkvD>

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS

Objetivo:

Explicar los procedimientos para la detección de Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas mediante el método D-test

Alcance:

El presente procedimiento posee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología garantizando su correcta realización.

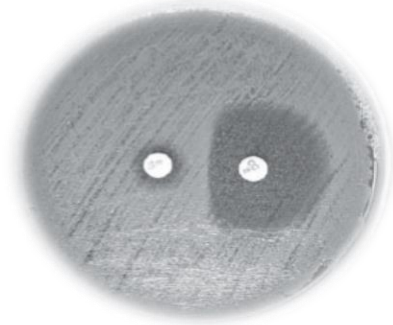
Responsable: Tesista, de la carrera de laboratorio clínico


Materiales:

- Rotulador
- Guantes de nitrilo
- Lámpara de alcohol
- Gradilla
- Fósforo
- Pinza metálica
- Hisopos estériles
- Inóculos estériles
- Cabina de bioseguridad
- Discos
- Incubadora
- Vortex
- Cajas petri agar Mueller Hinton


Procedimiento:

1. Rotular muestra, caja petri Mueller Hinton
2. Inocular y resuspender homogéneamente cada tubo de suero fisiológico con una colonia del microorganismo problema hasta conseguir una turbidez del 0,5 MacFarland, ajustar si es necesario.
3. Impregnar un hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones, siempre rotando el hisopo.
4. Dejar reposar por 10 min
5. Utilizando unas pinzas previamente flameadas y frías situar un disco de eritromicina y otro de clindamicina separados entre una distancia de 15 y 20 mm de borde a borde
6. Después de 18-24 horas de incubación se apreciará el achatamiento del halo de clindamicina del lado que enfrenta al disco de eritromicina el muy conocido efecto D mostrando un fenotipo de resistencia inducible



Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

Anexo 15 Protocolo Control De Temperatura Incubadora Y Congelador

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO CONTROL DE TEMPERATURA INCUBADORA Y CONGELADOR	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO CONTROL DE TEMPERATURA INCUBADORA Y CONGELADOR

Objetivo:

Determinar la temperatura óptima para los medios de cultivo y para la conservación de medios y discos.

Alcance:

El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología.

Responsable:


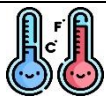

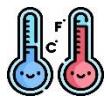
Tesista, de la carrera de Laboratorio Clínico

Recursos materiales:


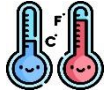

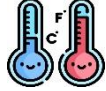
- Incubadora
- Congelador

Plantillas registro temperatura incubadora:

REGISTRO DE TEMPERATURA DE LA INCUBADORA


MES RANGO (35 + -1)																																
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																															
																																
TARDE 	HORA																															
																																
RESPONSABLE:	LCDA. Ivanova Zúñiga Mg.Sc	FIRMA:																														
ELABORADO POR:	María Belén Carchi Flores																															

REGISTRO DE TEMPERATURA DEL CONGELADOR

MES RANGO (4-8°)																																	
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																																
																																	
TARDE 	HORA																																
																																	
RESPONSABLE:	LCDA. Ivanova Zuñiga Mg.Sc	FIRMA:																															
ELABORADO POR:	María Belén Carchi Flores																																

Bibliografía:

Fariñas, M., & Martínez. (2017). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Elsevier Doyma*, 30(1), 1–8.

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN

	Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Laboratorio Clínico	
Fecha de elaboración: 10 de mayo de 2022	PROTOCOLO PARA ELIMINACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO	Código: 0001
		Versión: 0001

PROTOCOLO PARA ELIMINACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Objetivo:

Establecer la correcta eliminación del material contaminado en el área microbiológica.

Alcance:

El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para los encargados del trabajo de integración curricular en el área de microbiología.

Fundamento:

La eliminación de residuos debe ser considerada como una parte muy importante de la seguridad en el área de microbiología. Muchos de los desechos que se generan pueden estar contaminados por microorganismos o contener sustancias químicas tóxicas y peligrosas. En menor medida, el personal del laboratorio puede estar expuesto a los efectos de las radiaciones ionizantes. (Resino, 2011).

Materiales:


- Autoclave
- Fundas para autoclave
- Fundas rojas
- Contenedores para desechos especiales, infecciosos
- Agua destilada para autoclave

Procedimiento:

1. Aplicar las normas de bioseguridad en el uso de guantes y mascarilla.
2. Esterilizar en la autoclave a 120 grados centígrados por 60 minutos
3. Desechar restos en bolsa roja, pesar y rotular

Bibliografía:

Resino, S. (2011). Gestión de los residuos en el laboratorio de microbiología clínica. *Epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas*. Obtenido de: <https://bit.ly/2Q4SQcB>

Elaborado por:	María Belén Carchi Flores	Fecha: 13/05/2022
Revisado y aprobado por:	Lcda. Ivanova Zúñiga M. Sc	 Firmado electrónicamente por: IVANOVA DEL CISNE ZUNIGA ROMAN