



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS REALIZADOS EN EL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, PERIODO ENERO - JUNIO DEL 2012.

*Tesis previa a la obtención:
Del título de Licenciada en Laboratorio Clínico.*

Autora:

Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Director:

Lic. Juan Carlos Montoya.

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS REALIZADOS EN EL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, PERIODO ENERO – JUNIO DEL 2012.

AUTORÍA

Los conceptos, ideas, contenidos, metodologías, recursos, resultados, conclusiones y recomendaciones, difundidos en el presente trabajo investigativo son de absoluta responsabilidad de la autora.

Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Lic.

Juan Carlos Montoya Ponce

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS REALIZADOS EN EL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, PERIODO ENERO – JUNIO DEL 2012., presentado por la Egresada Srta. Andrea Elizabeth Michay Curipoma, previo a optar el grado de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido elaborado bajo mi dirección y una vez revisado autorizo su presentación ante el tribunal correspondiente.

Loja, Noviembre del 2012.

Atentamente

.....

Juan Carlos Montoya Ponce

DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

La gratitud es un noble sentimiento que si no se lo expresa; es como que nunca hubiese existido, esta es la oportunidad para agradecerle a Dios por siempre acompañarme en este largo camino, por su inmenso amor que me da las fuerzas humanas y espirituales para poder continuar caminando a pesar de los tropiezos.

Así mismo, agradecer a la Universidad Nacional de Loja, Área de la Salud Humana y de manera especial a la Carrera de Laboratorio Clínico por haberme permitido formar parte de su grandiosa familia estudiantil, a sus autoridades y docentes, que contribuyeron con sus conocimientos, experiencias y sobre todo su apoyo incondicional a lo largo de esta etapa de formación.

Al Lic. Juan Carlos Montoya, director de tesis, quien desinteresadamente y acertadamente me asesoró en la realización, revisión y ejecución del presente trabajo investigativo.

Agradezco también a la Dra. Clara Bravo Jefa del Laboratorio Clínico del HRIA y a todo el personal del Laboratorio Clínico, por su paciencia, amistad, y por haberme brindado su tiempo y conocimiento invaluable.

Y a todas las personas entre ellos familia, amigos, conocidos, quienes de una u otra forma contribuyeron para que el sueño de ser una profesional, hoy sea una maravillosa realidad, gracias de todo corazón.

Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

DEDICATORIA

Con inmenso amor, cariño y gratitud dedico mi tesis a ti mi Dios por regalarme salud y vida para poder estar aquí cumpliendo un sueño.

A mi madre hermosa, por ser mi apoyo incondicional en todo momento bueno y malo, la que me da el impulso para siempre seguir adelante, a ti por tu enorme paciencia, sacrificio y amor.

Lo dedico a mi pequeño Matteo Sebastián, a ti hijo mío, por ser la razón de mí existir, por que con tu ternura y alegría me das fuerza para luchar contra todo. A mi familia, mis hermanos, en especial a ti hermanita por haber sido un pilar fundamental en mi vida estudiantil, gracias por su cariño y confianza

Y a mis compañeros, amigas y amigos, que han estado ahí siempre, ayudándome, apoyándome, riendo, llorando, aprendiendo, a ustedes por darme los mejores y más lindos recuerdos de la etapa universitaria, Dios los bendiga.

Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

ÍNDICE

CONTENIDOS	Págs.
Título.....	II
Autoría.....	III
Certificación.....	IV
Agradecimiento.....	V
Dedicatoria.....	VI
Índice.....	VII
I Resumen/ Summary.....	VIII
II. Introducción.....	12
III. Revisión de Literatura.....	16
IV Materiales y Métodos.....	40
V Resultados.....	45
VI Discusión.....	52
VII Conclusiones.....	58
VIII Recomendaciones.....	60
IX Bibliografía.....	62
X ANEXOS.....	66

I. RESUMEN

RESUMEN

Las Infecciones del Tracto Urinario (ITU) es un problema tanto a nivel mundial como en países en vías de desarrollo, ya que causa graves daños a la salud de la población en general, y además representa pérdida de recursos humanos y materiales al no poder controlar el avance epidemiológico; pero lo más preocupante es el desarrollo de resistencia a los antibióticos del principal agente etiológico involucrado *Escherichia coli*, pues entre el 75 y 90% de las veces este patógeno es aislado de los urocultivos que se realizan en los laboratorios clínicos de los hospitales, debido a estos antecedentes se realizó el presente estudio investigativo con el propósito de evaluar la resistencia de *E. coli* a los antibióticos empleados en urocultivos de pacientes ambulatorios y hospitalizados, y establecer su relación con la edad del paciente, se realizó un estudio de tipo descriptivo, prospectivo y de corte transversal, en el que se procesó un total de 100 urocultivos, 71 de los cuales corresponden a pacientes ambulatorios y 29 a pacientes hospitalizados. Al finalizar la investigación los resultados confirmaron que en 34 urocultivos de pacientes ambulatorios se observó resistencia de *E. coli* al Ácido Nalidíxico (30 mcg), en 13 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), en 6 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg), en 4 urocultivos resistencia a Imipenem (10 mcg) y Amikacina (30 mcg), y 3 urocultivos resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg); mientras que de los 29 urocultivos realizados a pacientes hospitalizados, en 13 se observó resistencia de *E. coli* al Ácido Nalidíxico (30 mcg), en 5 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), y en 2 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg). Además se logró establecer que en los pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró la mayor frecuencia de resistencia de *E. coli* al Ácido Nalidíxico a una concentración de 30 microgramos (30 mcg). Una vez finalizada la determinación analítica los resultados fueron emitidos a los pacientes y con ello a los médicos tratantes correspondientes quienes prescribieron un tratamiento adecuado basado en el perfil de susceptibilidad de *E. coli* a los antimicrobianos empleados en el antibiograma.

Palabra clave: *Escherichia coli*, infección urinaria, urocultivo, resistencia antimicrobiana, antibióticos

SUMMARY

SUMMARY

Urinary Tract Infections (UTI) is a problem both globally and in developing countries, as it causes serious damage to the health of the general population, and also represents loss of human and material resources unable to epidemiological monitoring progress, but more worrying is the development of resistance to antibiotics of major etiologic agent involved *Escherichia coli*, for between 75 and 90% of the time this pathogen is isolated from urine cultures performed in clinical laboratories hospitals, due to this background the present study was conducted research with the purpose of evaluating the resistance of *E. coli* to antibiotics used in cultures of the patients and outpatients, and establish its relationship with the patient's age, we conducted a descriptive study, prospective and cross-sectional, which processed a total of 100 urine cultures, 71 which correspond to outpatients and 29 inpatients. After the research results confirmed that in 34 outpatient urine cultures showed resistance to *E. coli* to nalidixic acid (30 mcg) in 13 urine cultures Ceftriaxone resistance (30 mcg), in 6 urocultures gentamicin resistance (10 mcg) in 4 urocultures Imipenem resistance (10 mcg) and amikacin (30 mcg), and 3 Nitrofurantoin resistance urine cultures (300 mcg), while the 29 cultures made inpatients, resistance was observed in 13 of *E. coli* to nalidixic acid (30 mcg) in 5 urocultures resistance to ceftriaxone (30 mcg), and 2 urine cultures gentamicin resistance (10 mcg). Furthermore it was established that in patients between 16 and 30 years of age had the highest frequency of resistance of *E. coli* nalidixic acid at a concentration of 30 micrograms (30 mcg). Once the results analytical determination were issued to patients and thus the corresponding physicians who prescribed appropriate treatment based on the susceptibility profile of *E. coli* used in antimicrobial susceptibility testing.

Keyword: *Escherichia coli*, urinary tract infection, urine culture, antimicrobial resistance, antibiotic

II. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) representan una entidad clínica de gran importancia médica y alta frecuencia, tanto a nivel adulto, como en la edad pediátrica, constituyendo la primera causa de consulta en nefrología y la tercera por enfermedades infecciosas en los servicios ambulatorios. **(1)**

Los bacilos gramnegativos causan la mayoría de la infecciones urinarias adquiridas en el hospital y *Escherichia coli* es el primer microorganismo involucrado. Los microorganismos grampositivos, las especies de *Cándida* y otros hongos causan el resto de las infecciones. Los factores de riesgo que predisponen a los pacientes para la infección urinaria nosocomial son edad avanzada, sexo femenino, enfermedad subyacente severa y colocación de catéteres urinarios permanentes. **(2)**

La infección del tracto urinario resulta de una compleja interacción entre agentes bacterianos y factores específicos del huésped, de lo cual puede resultar una bacteriuria asintomática, una infección urinaria baja o una pielonefritis, entidades que representan impactos clínicos diferentes. Diversos estudios etiológicos han mostrado que el agente más frecuente de ITU es el bacilo Gram negativo *Escherichia coli*, correspondiendo entre el 75 y 90%. Dentro de los microorganismos que se incluyen en el 10% restante están: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*. **(3)**

En Ecuador según el INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador) en el 2009 las Infecciones de Vías Urinarias representan un problema de salud que se ubica en el octavo puesto con una tasa de 10.3% en las mujeres con relación a las diez principales causas de morbi-mortalidad. **(4)**

Por su parte, la resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, de modo que cada vez que se pone en uso un nuevo agente antimicrobiano (AAM) en la práctica clínica, el laboratorio de microbiología detecta cepas resistentes. Una cepa resistente se define como aquella que es capaz de multiplicarse en

presencia de concentraciones mayores que las alcanzadas con dosis terapéuticas.

En general, todos los mecanismos de resistencia pre-existen o se modifican en la naturaleza, ya sea por transferencia de genes de resistencia o por mutaciones, que pueden localizarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos. Por esto se puede suponer que los AAM tendrán actividad por un tiempo limitado, según la presión selectiva que este AAM ejerza sobre la población bacteriana. La presión selectiva resulta de la administración de un AAM que inhibe el crecimiento de microorganismo susceptible pero selecciona cepas resistentes (naturales o adquiridas) al AAM. **(5)**

Considerando que *Escherichia coli* es la causa más frecuente de infección urinaria en el medio extrahospitalario y hospitalario, y al ser un microorganismo que es capaz de desarrollar resistencia a los antibióticos que son utilizados en la práctica de laboratorio al elaborar el antibiograma; debido a estos antecedentes se realizó el presente estudio titulado DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *ESCHERICHIA COLI* EN UROCULTIVOS REALIZADOS EN EL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, PERIODO ENERO – JUNIO DEL 2012., con el principal propósito de determinar el perfil de sensibilidad a antimicrobianos de aislamientos de *E. coli* provenientes de urocultivos realizados a pacientes ambulatorios y hospitalizados, y establecer la relación con la edad del paciente.

Ante lo expuesto, se efectuó un estudio de tipo descriptivo, prospectivo y de corte transversal, en el que se procesaron un total de 100 urocultivos tanto de pacientes ambulatorios como de hospitalizados. De los 71 urocultivos de pacientes ambulatorios, en 34 de estos se observó resistencia de *Escherichia coli* al Ácido Nalidíxico (30 mcg), en 13 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), en 6 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg), en 4 urocultivos resistencia a Imipenem (10 mcg) y Amikacina (30 mcg), y 3 urocultivos resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg); mientras que de los 29 urocultivos realizados a pacientes hospitalizados, en 13 se observó resistencia de *E. coli* al

Ácido Nalidíxico (30 mcg), en 5 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), y en 2 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg). Además se logró establecer que en los pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró la mayor frecuencia de resistencia de *E. coli* al Ácido Nalidíxico en una concentración de 30 microgramos (30 mcg).

Los resultados obtenidos fueron debidamente difundidos al personal de salud que labora en la entidad hospitalaria a fin de que se adopten las medidas correctivas necesarias, sobre todo para vigilar la resistencia a los antibióticos.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

Genero Enterobacteriaceae.

Las Enterobacterias son bacilos gramnegativos, aerobios o anaerobios facultativos, no formadores de esporas inmóviles o móviles por flagelos peritricos, oxidasa negativos, que producen ácidos por vía fermentativa a partir de la glucosa y reducen los nitratos a nitritos.

La familia *Enterobacteriaceae* es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos con importancia clínica. Son microorganismos ubicuos, se encuentran de forma universal en el suelo, el agua, la vegetación y también en la flora intestinal normal de muchos animales incluido el ser humano. Producen una gran variedad de enfermedades en el ser humano, como el 30% al 35% de las septicemias, más del 70% de las infecciones del aparato urinario (IAU) y muchas infecciones intestinales. **(6)**

Fisiología y estructura

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son bacilos gramnegativos de tamaño intermedio (0,3 a 1 x 1 a 6 um). Comparten un antígeno común (antígeno común enterobacteriano), pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos, y no forman esporas. Todos los miembros pueden crecer rápidamente de forma aerobia o anaerobia (anaerobios facultativos) en varios medios no selectivos (p. ej., agar sangre) y selectivos (p. ej., agar Mac-Conkey). La familia *Enterobacteriaceae* tiene unos requerimientos nutricionales sencillos: fermentan la glucosa, reducen los nitratos y son catalasa-positivos y oxidasa-negativos. **(7)**.

Patogenia e Inmunidad.

Se han identificado numerosos factores de virulencia en los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Algunos son comunes a todos los géneros, mientras que otros son específicos de las cepas virulentas.

Endotoxina.

La endotoxina es un factor de virulencia que comparten las bacterias gramnegativas aerobias y algunas anaerobias. La actividad de esta endotoxina

depende del componente lípido A del lipopolisacárido que se libera durante la lisis celular

Cápsula.

Las enterobacterias encapsuladas se protegen de la fagocitosis mediante los antígenos capsulares hidrofílicos, los cuales repelen la superficie hidrofóbica de la célula fagocítica. Estos antígenos interfieren en la unión de los anticuerpos a las bacterias y son poco inmunógenos o activadores del complemento.

Variación de fase antigénica.

La expresión del antígeno capsular K y del antígeno flagelar H están bajo control genético del microorganismo.

Cada uno de estos antígenos se puede expresar alternativamente o bien no expresarse en absoluto (variación de fase), una característica que protege a las bacterias de la destrucción celular mediada por anticuerpos.

Secuestro de factores de crecimiento.

Los medios de cultivo enriquecidos aportan nutrientes a los microorganismos, pero las bacterias se tienen que comportar como carroñeras con los nutrientes en condiciones in vivo.

El hierro es un importante factor de crecimiento para las bacterias, pero se encuentra unido a las proteínas hemo (p. ej., hemoglobina, mioglobina) o a las proteínas quelantes del hierro (p. ej., transferrina, lactoferrina).

Resistencia al efecto bactericida del suero.

Mientras que muchas bacterias se pueden eliminar rápidamente de la sangre, los microorganismos virulentos que son capaces de producir infecciones sistémicas son con frecuencia resistentes a la acción bactericida del suero.

Aunque la cápsula bacteriana puede proteger a los microorganismos de este efecto bactericida, otros factores evitan la unión de los componentes del

complemento a las bacterias y su eliminación posterior mediada por el complemento.

Resistencia antimicrobiana.

Con la misma rapidez con la que se introducen nuevos antibióticos, los microorganismos desarrollan resistencias a estos. Esta resistencia puede estar codificada en plásmidos transferibles e intercambiarse entre especies, géneros e incluso familias de bacterias. **(8)**

Infecciones urinarias

El aparato urinario se divide en una porción superior, compuesta por los riñones, la pelvis renal y los uréteres, y una porción inferior, compuesta por la vejiga urinaria y la uretra.

Las infecciones urinarias altas suelen ser ascendentes; es decir, se originan en la vejiga y ascienden a través de los uréteres hasta los riñones. Normalmente, la válvula vesicouretral evita el reflujo de la orina desde la vejiga hacia los uréteres. Las personas con anomalías urogenitales o con sobredistensión de la vejiga debido a obstrucciones del flujo de salida, mal funcionamiento neurogénico o presión del útero agrandado durante el embarazo, son muy sensibles a las infecciones urinarias ascendentes. Las infecciones de la pelvis renal (pielitis) y del riñón (pielonefritis) son las complicaciones más frecuentes. Las infecciones pueden ser agudas o recurrentes con daño inflamatorio crónico. Las infecciones urinarias altas rara vez son el resultado de la diseminación por vía sanguínea de una bacteria dentro de la corteza renal en pacientes con septicemia. Las manifestaciones comunes son los abscesos multifocales o la pielonefritis supurativa.

A veces, las infecciones urinarias se dividen en dos categorías: no complicadas y complicadas. En una mujer joven sin enfermedad subyacente urinaria o sistémica las infecciones no complicadas son la cistitis aguda o la pielonefritis. Si el diagnóstico es cistitis, se puede instituir una terapia empírica con antibióticos sin recurrir al cultivo, dado que *Escherichia coli* es responsable de casi todas estas infecciones. Para demostrar que el proceso es inflamatorio se

debe realizar un análisis de orina o una prueba para esterasa leucocitaria; si los neutrófilos polimorfonucleares están ausentes, se debe efectuar un cultivo antes de comenzar el tratamiento con antibióticos. No es necesario realizar un cultivo de seguimiento a menos que los síntomas persistan.

La cistitis o la pielonefritis en los varones, los niños, los pacientes cateterizados en forma crónica y las mujeres con infecciones recurrentes, anormalidades urológicas o enfermedades subyacentes se consideran una infección complicada. Se requiere análisis de orina y urocultivo para la cistitis complicada y para todos los casos de pielonefritis. **(9)**.

Signos y síntomas clínicos

Las principales manifestaciones clínicas de las infecciones urinarias altas son fiebre (a menudo con escalofríos) y dolor en el flanco. La frecuencia, la urgencia y la disuria son muy sugestivas de infecciones de la vejiga urinaria y de la uretra. Sin embargo, en algunos pacientes con pielonefritis u otras infecciones urinarias altas los primeros síntomas son compatibles con los de las infecciones urinarias bajas. La diferenciación es importante porque el enfoque de la terapia con antibióticos para estas dos entidades es distinto.

Las infecciones urinarias bajas suelen comprometer la vejiga o la uretra. Los síntomas son similares para las infecciones en ambas localizaciones, por lo cual algunas veces el proceso se denomina síndrome uretral agudo. Las manifestaciones clínicas usuales son la micción frecuente y sin dolor de pequeñas cantidades de orina turbia (frecuencia y disuria) y malestar o dolor suprapúbico. La vaginitis en la mujer y la prostatitis en el hombre pueden causar síntomas similares, pero casi siempre se pueden diferenciar en forma clínica. El diagnóstico es particularmente difícil en las personas mayores, en las cuales puede no haber fiebre ni leucocitosis durante la infección.

Se discute mucho sobre el significado de la bacteriuria asintomática. A pesar de que este fenómeno ha sido documentado en muchos tipos de pacientes y escenarios clínicos, la necesidad de tratamiento de la bacteriuria se presenta

sólo en algunas situaciones clínicas: embarazo, mujeres que están siendo sometidas a procedimientos genitourinarios invasivos y receptores de trasplantes renales durante el período postrasplante inmediato. **(10)**

Factores del huésped

La prevalencia de las infecciones urinarias varía con el género y la edad del paciente. En los recién nacidos y los lactantes, son más comunes en los varones, con una prevalencia global del 1%. La mayoría de estas infecciones se asocian con anomalías congénitas. En los niños en edad escolar existe una mayor prevalencia en las mujeres. Esta relación permanece constante en la adultez. En ciertas condiciones, como el embarazo o la diabetes, se observan altas tasas de incidencia de infecciones urinarias. En los ancianos, se puede esperar un aumento de infecciones urinarias tanto en las mujeres (20%) como en los varones (10%), en los cuales existen condiciones predisponentes, por ejemplo, uropatías obstructivas en la próstata, escaso vaciamiento de la vejiga por prolapso uterino y procedimientos que requieren instrumentación, tanto en hombres como en mujeres.

Sin embargo, las mujeres sexualmente activas son por mucho la población con mayor riesgo de tener una infección del tracto urinario sintomática o una bacteriuria asintomática. A pesar de que la infección asintomática en este grupo no produce problemas médicos serios, puede ser un marcador de infecciones sintomáticas futuras. Las mujeres son más susceptibles que los hombres debido a la longitud más corta de la uretra. Los patógenos usuales son la flora bacteriana perineal que se origina en el tubo digestivo, sobre todo si la bacteria tiene factores que facilitan su unión al epitelio urinario. El coito facilita la entrada de las bacterias en la uretra femenina.

Un segundo grupo de individuos que se encuentran en riesgo de infección urinaria son los pacientes cateterizados en forma crónica. Un cuerpo extraño, como el catéter urinario permanente, garantiza su colonización a los 5 días de su colocación. La bacteriuria asintomática resultante no es dañina por sí misma, pero expone al paciente a la aparición de infección sintomática, como pielonefritis y sepsis urinaria. Cuando el paciente también sufre de demencia,

como muchos ancianos, puede ser difícil determinar si la infección es sintomática. En ausencia de fiebre o leucocitosis, los únicos indicadores pueden ser cambios sutiles en la personalidad o en el estado mental. Estas características las pueden detectar mejor las personas que asisten cotidianamente al enfermo que el médico, quien ve al paciente en forma intermitente. **(11)**

Diagnóstico de Laboratorio Clínico.

La infección urinaria se define como la presencia de gérmenes en la orina. El diagnóstico de esta infección se basa en el urinocultivo y el análisis de orina.

Examen de la orina

El análisis de orina, no puede sustituir al cultivo de orina para comprobar la existencia de una ITU, pero puede ayudar a seleccionar a los pacientes en los que se ha de comenzar a administrar un tratamiento de forma inmediata. **(12)**

De los componentes del análisis de orina, los tres más útiles para el diagnóstico de una posible ITU son la esterasa leucocitaria, los nitritos (obtenidos por tira reactiva) y el análisis por microscopía del sedimento. En la tabla I se presentan las principales características de la validez de las pruebas diagnósticas de infección del tracto urinario. **(12)**

Esterasa leucocitaria

La liberan los leucocitos; por tanto, se trata de una prueba indirecta que traduce la presencia de leucocitos en la orina. En comparación con métodos de recuento en cámara presenta una sensibilidad del 88-95% para la detección de piuria cuando se establece un punto de corte > 10 leucocitos por mm^3 . Puede rendir el mismo porcentaje de resultados positivos falsos y negativos falsos que la leucocituria.

Nitrituria

Esta prueba se basa en la capacidad de los microorganismos patógenos urinarios de reducir los nitratos a nitritos. Se utiliza un papel reactivo que vira de color cuando entra en contacto con el nitrato. Para ello, es preciso que la orina permanezca almacenada en la vejiga durante tiempo suficiente –a

menudo más de cuatro horas– o que la cantidad de orina residual supere cierto volumen. Su sensibilidad oscila entre 30 y 50% en lactantes y niños con micciones frecuentes. Su especificidad es del 99%. El valor predictivo en niñas es del 99% y prácticamente equivalente a la presencia de bacteriuria. La muestra de orina que se utilice debe ser lo más fresca posible, para evitar que los gérmenes contaminantes puedan reducir los nitratos a nitritos y dar una reacción falsamente positiva. En niños pueden obtenerse resultados positivos falsos por la presencia de gérmenes bajo el prepucio. Además, se pueden producir resultados negativos falsos cuando el tiempo de almacenamiento de la orina ha sido escaso.

Leucocituria

Su existencia se confirma cuando el número de leucocitos en la orina analizada microscópicamente es $> 10 \times \text{mm}^3$ o > 5 leucocitos x campo a gran aumento.

(12)

La infección urinaria sin leucocituria se observa en la bacteriuria asintomática, en la neutropenia grave, cuando el pH de la orina es alcalino, y cuando la muestra de orina está muy diluida.

La leucocituria sin infección se observa durante la fiebre, infecciones que no afectan al tracto urinario, en el curso de enfermedades inflamatorias extrarrenales, y en afecciones renales.

Bacteriuria

Se define como la presencia de bacterias en muestras de orina fresca no centrifugadas. El rendimiento de esta prueba puede mejorarse notablemente si se realiza tinción de Gram. Junto con la detección de leucocitos en la orina, su sensibilidad y su valor predictivo positivo para la identificación de urocultivos positivos son elevados. Puede haber bacteriuria sin piuria en caso de contaminación, durante la fase muy temprana de una ITU (respuesta inflamatoria todavía no desarrollada) y en la bacteriuria asintomática. **(13)**

Hematuria

Aparece frecuentemente en niños con ITU sintomáticas. Es macroscópica en un 20-30% de las cistitis; no obstante, la detección de hematuria o proteinuria no ayuda a establecer el diagnóstico de ITU.

Resultados del análisis de orina indicativos de infección del tracto urinario.

- Resultado positivo en una tira reactiva para esterasa leucocitaria y nitritos.
- Más de 5 leucocitos por campo a gran aumento.
- Presencia de bacterias en muestra de orina no centrifugada teñida con Gram.

Métodos de recogida de la orina

A chorro medio. Sólo puede realizarse en niños continentales. Tras previo lavado de los genitales externos con agua y jabón neutro se hace orinar al niño desechando la primera parte de la micción.

Seguidamente se recoge la parte central en un recipiente estéril. Es preferible la primera orina de la mañana, ya que cuanto mayor es el intervalo entre micciones tanto mayor es la probabilidad de que se multiplique la bacteria y alcance altos recuentos. Antes de iniciar el tratamiento, es preferible recoger dos muestras distintas de orina para realizar urocultivos. **(14)**

Bolsas adhesivas. Se adhieren al periné, después de lavar la zona con suero fisiológico o jabón neutro. No utilizar antisépticos, porque pequeñas gotas pueden inhibir el crecimiento bacteriano. Deben ser sustituidas por otra bolsa estéril en un plazo máximo de 30 minutos. Han de retirarse inmediatamente después de que el niño miccione. Su sensibilidad es del 100% y su especificidad oscila entre 14 y 84%. Considerando una prevalencia de ITU del 5%, el 85% de los cultivos rendirán resultados positivos falsos y, a medida que disminuya la prevalencia en el medio, aumentará la proporción de resultados positivos falsos. El empleo de esta prueba persiste porque, si un cultivo de orina obtenida de este modo es negativo, se descarta la ITU y, si es positivo, se requiere confirmar el resultado mediante sondaje o punción suprapúbica.

Punción suprapúbica. Es el método estándar para el diagnóstico de ITU. La realización de esta técnica es fácil y produce mínimo traumatismo. Se recomienda aplicar una bolsa en el periné antes de limpiar el abdomen. Con el lactante en posición de decúbito supino, se introduce verticalmente una aguja de calibre 21-25 conectada a una jeringa. El lugar de punción se sitúa 0,5 cm por encima de la sínfisis del pubis en la línea media. El mejor momento de realizarla es media hora después de que el lactante haya comido. Hay que asegurarse de que el pañal esté seco. En estas condiciones la posibilidad de éxito es del 80-90% y aumenta a 99% si se realiza bajo control ecográfico.

Cateterismo vesical. Previo lavado del periné con suero fisiológico, se introduce un catéter de 8-10 F por la uretra. Se ha de desechar la primera parte de la orina emitida. **(12)**

El riesgo de introducir una ITU por sondaje es bajo; por este motivo, esta técnica se recomienda para confirmar ITU en niños incontinentes. Está contraindicada en niños que padezcan fimosis graves o e infecciones del área genital.

Manejo de las muestras de orina

La orina se ha de examinar y sembrar inmediatamente después de recogerla si no es posible refrigerarla a 4°C, incluso durante el traslado al laboratorio. Si no es posible realizar la siembra inmediata, la orina puede guardarse refrigerada en una nevera, como máximo, por espacio de 24 horas. Sí está a temperatura ambiente, la siembra no puede demorarse más de tres horas.

Criterios bacteriológicos para el diagnóstico de infección del tracto urinario

Existen situaciones en que el número de colonias puede ser menor del requerido para considerar un urocultivo positivo. Estas situaciones son las siguientes:

- Administración previa de antibióticos.

- Presencia de polaquiuria importante que reduzca el período de incubación de la orina en la vejiga.
- Obstrucción ureteral que interfiera con la descarga de bacterias en la orina.
- La presencia simultánea de diferentes gérmenes debe hacernos sospechar que la muestra de orina está contaminada. **(12)**.

Urocultivo

El urocultivo es imprescindible para el diagnóstico. En la interpretación del urocultivo suele ser indispensable descartar los resultados falsos positivos y falsos negativos para lograr un diagnóstico acertado. Resultados falsos positivos pueden encontrarse en orinas contaminadas con deposiciones o secreciones vaginales; recolectores colocados durante más de 30-40 minutos; demora en el envío de la muestra de orina al laboratorio falta de refrigeración o uso de desinfectantes contaminados u contaminación en el laboratorio. Resultados falsos negativos pueden observarse en tratamiento antibiótico reciente (la muestra debe tomarse por lo menos 5 días después de suspendido el antibiótico no profiláctico; gérmenes de difícil desarrollo; (formas L) orinas muy diluidas o de baja densidad; el uso de desinfectantes locales, y obstrucción completa del lado infectado. **(15)**

Antibiograma

La selección apropiada y uso de un agente antimicrobiano están basados en las características del organismo etiológico y en el patrón de susceptibilidad, el huésped y el fármaco.

Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser precedida.

Métodos de Detección de Susceptibilidad Antimicrobiana

Método de Microdilución en Caldo

La concentración Inhibitoria Mínima (CIM) está definida como la más baja concentración de un agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano. Es un método cuantitativo que utiliza diluciones dobles seriadas del antimicrobiano y se expresa el resultado en $\mu\text{g/mL}$. **(16)**

Método de Difusión en Disco

El método de difusión en disco está basado en la presencia o ausencia de una zona de inhibición de crecimiento, que se mide en milímetros. La interpretación de la prueba está basada en la correlación entre el diámetro de la zona de inhibición (mm) con la CIM ($\mu\text{g/mL}$) para cada antimicrobiano y microorganismo.

Método de Agar Dilución

Se usa para determinar la susceptibilidad antimicrobiana, incorpora el antimicrobiano dentro del agar y cada placa contiene una concentración diferente de antimicrobiano. La suspensión de la bacteria se ajusta al estándar de turbidez 0.5 McFarland y se hace una dilución para que la concentración final del inóculo sea de 10⁴ UFC. Este método es recomendado para microorganismos exigentes como *N. gonorrhoeae*.

Método E test

La prueba E test determina la susceptibilidad de forma cuantitativa, se basa en el uso de unas tiras o "epsilómetros" (AB Biodisk, Sweden) las cuales contienen un gradiente exponencial continuo de antibiótico y una escala interpretativa. El gradiente de antibiótico cubre un amplio rango de concentraciones correspondientes aproximadamente a 15 diluciones dobles de CIM. Estas concentraciones están diseñadas para corresponder con los puntos de corte correspondientes a cada antimicrobiano.

El procedimiento es exactamente igual al usado en el método de difusión en disco pero en vez de observar una zona circular de inhibición, se observa una zona elíptica. La CIM del antibiótico se determina en el punto donde la elipse de crecimiento bacteriano intercepta la escala de concentración de la tira.

Métodos Comerciales

Los métodos comerciales frecuentemente utilizan puntos de corte o diluciones en concentraciones específicas que permiten diferenciar entre las categorías de interpretación. **(17)**

Cuando los sistemas comerciales son usados se deben seguir las recomendaciones de la manufactura en cuanto a almacenamiento, inoculación, incubación y interpretación. De acuerdo a la FDA la tasa aceptable de errores mayores es menor de 1.5% y de errores muy mayores es menor de 3% de los aislamientos.

Indicaciones para las pruebas de susceptibilidad

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana están indicadas para cualquier organismo que esté implicado en un proceso infeccioso y en el cual se requiera una terapia antimicrobiana; con mayor frecuencia se realizan en aquellos organismos que pertenecen a una especie capaz de presentar resistencia a los agentes antimicrobianos de primera línea más utilizados y que tengan estandarizados los criterios de interpretación. Es importante que estos aislamientos clínicos sean recuperados de muestras tomadas adecuadamente.

Las pruebas de susceptibilidad no están indicadas cuando la infección es debida a un microorganismo del cual se conoce su susceptibilidad a cierto fármaco (ej. La susceptibilidad de *S. pyogenes* a penicilina). Aislamiento de *S. pyogenes* proveniente de pacientes alérgicos a la penicilina, las pruebas de susceptibilidad a eritromicina u otro macrólido están indicadas para detectar resistencia a estos antibióticos. Sin embargo cuando la naturaleza de la infección no es clara y en la muestra se observa mezcla de diferentes microorganismos o flora normal, las pruebas de susceptibilidad no están indicadas ya que pueden generar un uso inapropiado de un antibiótico.

Criterios de Interpretación de las Pruebas de Susceptibilidad

Estos criterios están basados en la respuesta in vitro de un microorganismo a un agente antimicrobiano con niveles alcanzados en sangre o tejidos del antimicrobiano dosificado. Los puntos de corte y su interpretación se generan teniendo en cuenta los criterios microbiológicos, criterios de

farmacocinética/farmacodinamia y clínicos. Los siguientes son los criterios de interpretación actualmente sugeridos: **(17)**

Susceptible: Cuando el microorganismo es inhibido por las concentraciones alcanzadas por el agente antimicrobiano cuando la dosis recomendada es usada para el sitio de la infección.

Intermedia: Cuando el microorganismo presenta una CIM del agente antimicrobiano cercano a los niveles de antibiótico usualmente alcanzados en sangre o tejidos y para los cuales la respuesta puede ser más baja que para los aislamientos susceptibles. La categoría intermedia implica la eficacia clínica en sitios del cuerpo donde el fármaco es concentrado fisiológicamente o cuando se puede utilizar una dosis más alta de lo normal.

Resistente: Cuando el aislamiento no es inhibido por las concentraciones séricas del antimicrobiano normalmente alcanzadas a dosis normales.

No susceptible: Cuando el microorganismo solamente tiene la categoría de interpretación de susceptible, debido a la ausencia o rara ocurrencia de resistencia. Los aislamientos que tienen CIM por encima o un diámetro de la zona debajo de los valores indicados para el punto de corte como susceptible, puede ser reportado “no susceptible”.

Un aislamiento que es interpretado como no susceptible no significa que tenga un mecanismo de resistencia. Es posible que los aislamientos con una CIM en el punto de corte de susceptible, carezcan de mecanismo de resistencia y se pueden encontrar dentro de las cepas del tipo salvaje.

Para aislamientos que se encuentran en esta categoría de “no susceptible la identificación y susceptibilidad antimicrobiana puede realizarse. **(17)**.

ANTIBIOGRAMA PARA Enterobacteriaceae

MEDIO DE CULTIVO

Agar Müeller Hinton

INOCULO

Método de crecimiento o suspensión directa de la colonia. Ajustar a la turbidez equivalente al estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland.

DISCOS DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA A INCLUIR EN EL ANTIBIOGRAMA

Grupo I:

- Ampicilina
- Cefalotina
- Ampicilina / Sulbactam o Amoxicilina / Ácido Clavulánico.
- Cefuroxima
- Cefotaxima o Ceftriaxona
- Gentamicina
- Amikacina
- Ácido Nalidíxico
- Norfloxacin
- Ciprofloxacina
- Cotrimoxazol (Trimetoprim/Sulfametoxazol)
- Nitrofurantoína

Grupo II:

- Cefoxitina
- Aztreonam
- Ceftazidima
- Cefixima
- Cefoperazona/Sulbactam
- Cefepime o Cefpirome
- Imipenem o Meropenem

- Cloramfenicol
- Ofloxacina

INCUBACIÓN: 35°C

LECTURA: 15-18 h

INTERPRETACIÓN DE LOS DIÁMETROS CRÍTICOS

Antibióticos y diámetros críticos

Reglas para la lectura e interpretación del antibiograma

Disco de Ampicilina.

- a. El resultado del estudio de sensibilidad con el disco de Ampicilina es también válido para Amoxicilina.
- b. Tomar en cuenta las resistencias naturales de las enterobacterias para el reporte.

Disco de Ampicilina/Sulbactam y Amoxicilina/Ácido Clavulánico:

- a. En enterobacterias no existe una disociación de resultados para estos discos por lo que debe utilizarse uno solo de ellos en el antibiograma.
- b. Tomar en cuenta las resistencias naturales de las enterobacterias para el reporte.

Disco de Cefalotina:

- a. El resultado del estudio de sensibilidad con el disco de Cefalotina es generalmente válido para la Cefazolina. También es válido para Cefadroxilo, Cefradina, Cefalexina, Cefaclor y Loracarbef pero únicamente de las cepas aisladas de infecciones urinarias.
- b. En el caso de *Salmonella spp* y *Shigella spp* las Cefalosporinas de primera y segunda generación no son eficaces clínicamente por lo que deben ser reportadas como resistentes a estos antibióticos aun cuando se observe actividad in vitro.

c. Tomar en cuenta las resistencias naturales de las enterobacterias para el reporte. **(17)**

Discos de Aminoglucósidos:

En el caso de *Salmonella spp.* y *Shigella spp* los Aminoglucósidos no son eficaces clínicamente por lo que deben ser reportadas como resistentes a estos antibióticos aun cuando se observe actividad in vitro.

Disco de Tetraciclina:

El resultado del estudio de sensibilidad con el disco de Tetraciclina es válido también para la Doxiciclina y Minociclina.

Discos de Cefalosporinas de tercera generación y Aztreonam:

a. Para *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* y *Providentia stuartii* un resultado intermedio o resistente a Cefotaxima, Ceftriaxona, Ceftazidima o Aztreonam obliga a reportar como intermedio o resistente a todo este grupo de antibióticos.

b. El disco de Cefixima no debe utilizarse en el antibiograma de *Morganella morganii*.

c. Algunas cepas de enterobacterias, principalmente de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, son clínicamente resistentes a las Cefalosporinas de tercera generación y al Aztreonam debido a la producción de “betalactamasas de espectro extendido”. Este tipo de resistencia puede ser difícil de detectar en el antibiograma estándar. **(17)**

RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE RESISTENCIA BACTERIANA (REDNARBEC)

Red Nacional de Resistencia Bacteriana de Ecuador (REDNARBEC) es la organización que ha presentado datos de resistencia bacteriana tanto a nivel comunitario como hospitalario en el Ecuador.

Se creó en abril de 1999 tan solo con 5 hospitales y obedeció a la tendencia mundial de ese entonces, conocer que pasaba con la resistencia en varias áreas geográficas. Se había reconocido a la resistencia bacteriana como un problema de Salud Pública. Los objetivos principales de la Red de vigilancia fueron mejorar la calidad de los laboratorios de microbiología y conocer los patrones de resistencia bacteriana de varios hospitales del país.

Hace 9 años la Red cuenta con 18 hospitales, tanto estatales como privados y ha logrado conocer que patrones de resistencia se presentan en los microorganismos causantes de procesos infecciosos tanto hospitalarios como comunitarios. Actualmente el centro coordinador de la Red es el Hospital Vozandes de Quito.

Reseña Histórica

Se crea la Red Nacional de Vigilancia de Resistencia Bacteriana-Ecuador (REDNARBEC), el 22 de abril de 1999, frente a la necesidad de conocer la magnitud de este problema en el país.

Ingresar los datos de las cepas que se aíslan en la rutina de trabajo, en el sistema WHONET (Red de la Organización Mundial de la Salud para monitoreo de la resistencia bacteriana) y entregarlo mensualmente al centro coordinador (Hospital Vozandes, Quito) a través de un disquete.

Realizar quincenalmente el control de calidad interno.

Dos veces al año someterse a un control de calidad externo.

Realizar la prueba de difusión con discos de sensibilidad.

Seguir las normas establecidas en el NLCCS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), actualmente CSLI

Los objetivos específicos de este sistema de vigilancia fueron:

1. Determinar los niveles de sensibilidad de la cepas tanto hospitalarias como las de consulta externa y emergencia.
2. Identificar los microorganismos causales de los diversos procesos infecciosos.
3. Sensibilizar al personal médico, de enfermería, administración hospitalaria, y otros relacionados con salud sobre este problema.
4. Crear un consenso entre todas las unidades operativas sanitarias involucradas en la red para realizar los mismos procedimientos.
5. Fortalecer los laboratorios de microbiología hospitalarios.

Por lo anterior expuesto la Red no tiene como único objeto recolectar datos de sensibilidad de las cepas, sino también mejorar la calidad de los laboratorios de microbiología hospitalarios. El mantenimiento del estudio y los resultados conseguidos responden al interés, esfuerzo y dedicación de numerosas personas, y el desenvolvimiento de la misma ha sido posible gracias a la voluntad desinteresada de todos sus miembros de ofrecer una mejor calidad de asistencia. **(18)**

RESISTENCIA BACTERIANA

Representa es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico.

Se define como la capacidad natural o adquirida de una bacteria de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. Desde el inicio mismo de la era antibiótica (aparición de la penicilina) se ha descrito el fenómeno de la resistencia, se destaca en los años sesenta la aparición de la resistencia a la meticilina y posteriormente diversos mecanismos de resistencia a los betalactámicos (betalactamasas de espectro extendido, neumococo resistente a la penicilina) y a vancomicina (*Enterococcus vancomicino* resistente, *Staphylococcus aureus* con sensibilidad

disminuida a la vancomicina) y la descripción de los diversos mecanismos de resistencia a las quinolonas dentro de los que se destacan los mecanismos de eflujo.

En la clínica resulta en la imposibilidad de realizar el control de la infección y la erradicación del agente patógeno causal, con el consiguiente aumento en la mortalidad por enfermedades infecciosas; y en el laboratorio se expresa como un incremento significativo en la concentración mínima (CIM) para inhibir el crecimiento del microorganismo en el antibiograma.

La aparición de resistencia se produce por dos factores fundamentales:

Existencia de genes determinantes de la aparición de un mecanismo de resistencia, que pueden ser transferidos entre células bacterianas de una misma cepa o varias diferentes, convirtiendo la resistencia en un fenómeno transferible. **(19,20)**

El uso amplio de antibióticos que ejercen una presión de selección que favorece la supervivencia de cepas que portan y expresan genes determinantes de resistencia.

La Resistencia puede, en consecuencia originarse en mutaciones al azar de genes localizados en los cromosomas o en sitios extracromosómicos como los plásmidos, que confieren resistencia (es decir un fenómeno primario no relacionado con el uso previo de un antibiótico), o como consecuencia del uso repetitivo y extendido de un determinado compuesto.

Las mutaciones pueden ser sólo cambios microevolutivos, es decir que comprometen un par de nucleótidos en la estructura del DNA, mientras que los macroevolutivos involucran grandes segmentos del mismo incluyendo inversiones, duplicaciones, inserciones, deleciones y transposiciones. Es decir que pueden existir mutaciones de genes preexistentes o adquisición de nuevos genes.

Los plásmidos son secuencias de DNA circular, autónomas, de 10.000 a 40.0000 pares de bases. Pueden experimentar autorreplicación y portan genes

relacionados con la virulencia y la resistencia. La transferencia de material genético entre plásmidos o entre un plásmido y un cromosoma se realiza a través de elementos génicos denominados transposones.

Los transposones poseen un sistema autónomo que promueve la recombinación aleatoria de secuencias no homólogas de DNA y produce rearrreglos cromosómicos. Son incapaces de replicarse autónomamente y por lo tanto deben localizarse en estructuras con capacidad de replicación como cromosomas y plásmidos.

Algunos transposones denominados conjugativos pueden movilizarse entre cromosomas heterólogos sin requerir de plásmidos en el proceso. Se denomina transposición al mecanismo por el cual el transposón replica en el cromosoma o plásmido donante y se inserta en el cromosoma o plásmido receptor. Esto conduce a la dispersión de genes de resistencia y a la generalización las bacterias patógenas.

Mecanismos de Resistencia

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde el ambiente biológico y otro el bioquímico.

Se conoce como resistencia natural a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico. Un ejemplo de esto es la resistencia de la *Pseudomona aeruginosa*, a las bencilpenicilinas y altrimetoprin sulfametoxazol; bacilos Gram negativos aeróbicos a clindamicina.

La resistencia adquirida aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, trasposones, integrones). En el primero se dan casos tales como la transformación de una Betalactamasa en una Betalactamasa de espectro extendido o como en el caso de mutaciones de los genes que codifican las porinas con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo

EL USO RACIONAL DE LOS ANTIMICROBIANOS

Indudablemente el uso racional de los antimicrobianos es la herramienta fundamental para evitar entrar en la época post-antibiótica. La resistencia a los antimicrobianos un problema que genera preocupación internacional. Las tres organizaciones internacionales que tienen responsabilidades sobre este tema, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Internacional de Epizootias (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), han mostrado, reiteradamente, su interés en el tema y han producido documentos aportando recomendaciones para la utilización adecuada de este tipo de fármacos.

Estas organizaciones, hasta la fecha han coincidido en una serie de recomendaciones, reflejadas en publicaciones que abarcan las siguientes áreas:

- Responsabilidad de las autoridades regulatorias y otras con poder de decisión.
- Calidad de manufactura.
- Marketing, distribución y ventas de este tipo de productos.
- Agentes promotores del crecimiento.
- Monitorización de resistencia y utilización de antimicrobianos.
- Uso prudente de antimicrobianos.
- Uso profiláctico de antimicrobianos.
- Entrenamiento y educación.
- Investigación.

Además de la organización de grupos de trabajo, publicación de documentos y difusión de material bibliográfico para conocimiento de técnicos y público en general, estas organizaciones internacionales siguen adelante con su política de aportar soluciones a este tema, que es una preocupación mundial **(21)**.

La terapéutica racional es un terreno dinámico, en que el avance del conocimiento va volviendo obsoletas las viejas recetas quimioterápicas. Clásicamente, se ha medicado con antibióticos siguiendo planes de administración o regímenes de dosificación, que permitían mantener concentraciones de droga en plasma y tejidos en forma continuada, durante un período suficiente para la total curación de la dolencia.

La curación se obtiene por muerte bacteriana de una gran parte de la población y eliminación de los miembros sobrevivientes por activa participación del organismo. De allí que sea tan importante el estado de inmunocompetencia del paciente para la curación. Pacientes inmunodeprimidos necesitan especial cuidado, dado que los quimioterápicos, en este caso, actúan sin la ayuda de las defensas del organismo. Hay una serie de consideraciones importantes que hacer para la cabal comprensión de este tema.

Medidas para mejorar el uso racional de los medicamentos

La OMS asesora a los países para que ejecuten programas nacionales de fomento del uso racional de los medicamentos mediante estructuras y medidas de política, información y educación, tales como:

- Creación de organismos nacionales que coordinen las políticas sobre el uso de los medicamentos y hagan un seguimiento de sus repercusiones.
- Formulación de directrices clínicas basadas en datos probatorios destinadas a la capacitación, supervisión y apoyo a la toma de decisiones relacionadas con los medicamentos²⁰.
- Elaboración de listas de medicamentos esenciales para ser utilizadas en la adquisición de medicamentos y los reembolsos de los seguros.
- Creación de comités distritales y hospitalarios de medicamentos y tratamientos que apliquen intervenciones para mejorar el uso de los medicamentos y efectúen un seguimiento de sus efectos.
- Inclusión en los estudios universitarios de cursos de farmacoterapia basados en problemas concretos.

- Inclusión de la formación médica continua como requisito para ejercer la profesión;
- Oferta de información pública independiente y no sesgada sobre los medicamentos, tanto para el personal sanitario como para los consumidores.
- Fomento de la educación de la población en materia de medicamentos.
- Eliminación de los incentivos económicos que facilitan la prescripción incorrecta, como la venta de medicamentos con ánimo de lucro por parte de los prescriptores, que ven así aumentados sus ingresos.
- Formulación de reglamentaciones que garanticen que las actividades de promoción se ajustan a criterios éticos.
- Financiación suficiente para garantizar la disponibilidad de medicamentos y personal sanitario.

La estrategia más eficaz para mejorar el uso de los medicamentos en la atención primaria en los países en desarrollo consiste en una combinación de la formación y la supervisión del personal sanitario, la educación de los consumidores y el suministro de medicamentos apropiados en cantidades suficientes. Separadamente, todas estas intervenciones tienen un impacto reducido. **(22)**

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO.

Es un estudio descriptivo - prospectivo y de corte transversal.

UNIVERSO.

El total de urocultivos realizados en el laboratorio clínico del Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja durante el periodo enero – octubre 2012.

MUESTRA.

100 urocultivos en los que se aisló e identificó *Escherichia coli* como el agente etiológico de la Infección del Tracto Urinario. (ITU)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Urocultivo positivo (mayor o igual a 100 000 bacterias/ml de orina).
- Urocultivos procedentes de pacientes de los servicios médicos ambulatorio y de hospitalización.
- Urocultivos que resultaron positivos para *Escherichia coli*.
- Pacientes que reporten no haber recibido medicación, y que presenten la solicitud de realización del urocultivo y antibiograma.

CRITERIO DE EXCLUSIÓN

- Urocultivo negativo (menor a 100 000 bacterias/ml de orina).
- Urocultivos procedentes de pacientes de los servicios médicos ambulatorio y de hospitalización, que se hayan realizado fuera del periodo de tiempo estipulado para el estudio.
- Urocultivos que resultaron positivos para otros microorganismos, excepto *E. coli*.
- Pacientes que reporten haber recibido medicación previo a la realización del urocultivo y antibiograma.

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN: TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS.

Para el desarrollo de la presente investigación se requirió de información bibliográfica así como también la elaboración de un cronograma de actividades.

TRAMITE LEGAL.

Se solicitó el permiso y autorización correspondiente al director del hospital Isidro Ayora. **Anexo 1.** Se solicitó autorización al Jefe del laboratorio, lugar en el cual se desarrollara el análisis clínico. **Anexo 2.**

Fase Pre - Analítica

- Recomendaciones para la obtención de la muestra de orina. **Anexo 3.**
- Identificación del paciente y muestra.
- Transporte y almacenamiento de las muestras. **Anexo 4.**
- Criterios de rechazo de las muestras. **Anexo 5.**
- Recolección y verificación de datos de los pacientes. **Anexo 6.**

Fase Analítica

- Estudio elemental microscópico de orina (EMO). Esto se hace para observar células, cristales urinarios, moco y otras sustancias, al igual que para identificar cualquier tipo de bacterias u otros microorganismos que pudieran estar presentes, y que permita orientar la selección del medio de cultivo adecuado. **Anexo 7.**
- Tinción de Gram. Las orinas se centrifugaron y el sedimento coloreado con Gram fue analizado microscópicamente, las muestras que presentaban bacterias fueron cultivadas en medios selectivos de acuerdo con la morfología y la tinción observada, aquellas en las que no se observaron bacterias no se cultivaron en ningún medio. **Anexo 8**

Medios de cultivo: fundamento y preparación.

- El Agar cistina-lactosa deficiente en electrólitos o CLED (Cysteine lactose electrolyte deficient) es un medio de cultivo no inhibitorio usado en el aislamiento y diferenciación de organismos urinarios. **Anexo 9.**
- E.M.B Agar. (agar eosina azul de metileno). Este medio es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae. **Anexo 10.**
- El agar sangre es una combinación de un agar base (agar nutritivo) con el agregado de 5 % de sangre ovina, también puede usarse sangre humana, para cultivos en una placa de Agar. El agar sangre aporta muchos factores de enriquecimiento. Se usa también para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos (que es un factor de virulencia). **Anexo 11.**
- MacConkey o Agar MacConkey es un medio de cultivo específico para bacterias Gram negativas y cepas que fermenten la lactosa. **Anexo 12.**
- Método de conteo en placa o recuento de colonias (Método de Kass). **Anexo 13.**

Pruebas bioquímicas para Enterobacterias fundamento, preparación y técnica de inoculación.

- Agar TSI. **Anexo 14.**
- Agar CITRDAO DE SIMONS. **Anexo 15.**
- AGAR UREA. **Anexo 16.**
- AGAR SIM. **Anexo 17.**
- AGAR Müeller Hinton. **Anexo 18**
- Identificación de Enterobacterias. **Anexo 19**

Fase Post - Analítica

- Formato para la entrega de resultados. **Anexo 20.**
- Difusión de resultados.

PLAN DE TABULACIÓN.

Se utilizó tablas de datos en Microsoft Excel 2010. Luego se realizó el análisis descriptivo de los datos calculando proporciones. A continuación se procedió a elaborar tablas y gráficas, para una mejor interpretación y análisis de los datos.

V. RESULTADOS

Tabla N.- 1.

Distribución de los pacientes según el servicio médico.

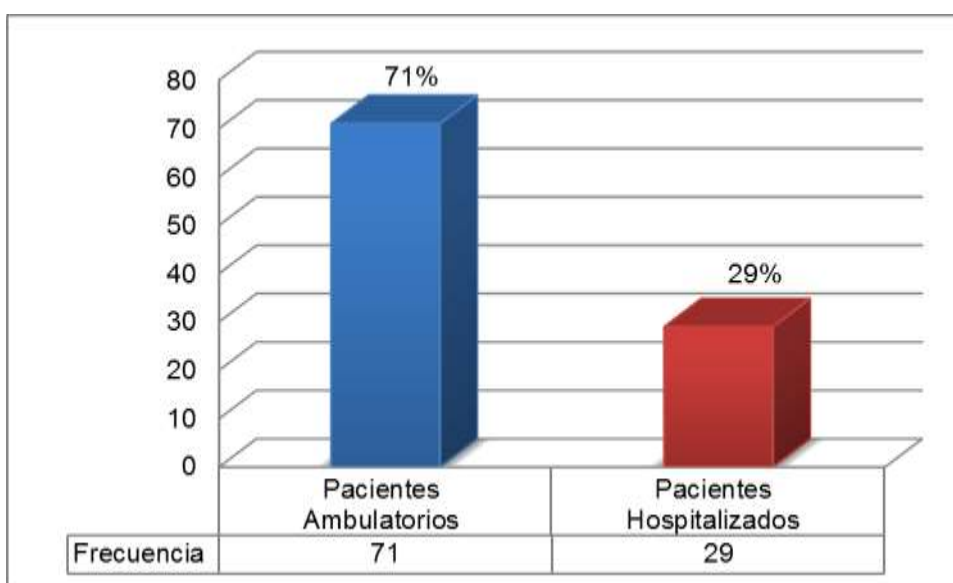
Servicio Médico	Frecuencia	Porcentaje
Pacientes Ambulatorios	71	71%
Pacientes Hospitalizados	29	29%
Total	100	100%

Fuente: Hoja de registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Gráfica N.- 1

Distribución de los pacientes según el servicio médico.



Fuente: Hoja de registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Análisis e interpretación.

De un total de 100 muestras de orina procesadas en el laboratorio clínico, lo que equivale al 100%, el 71% corresponde a pacientes ambulatorios; mientras que el 29% restante a pacientes hospitalizados.

Tabla N.- 2

Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos utilizados en urocultivos realizados a pacientes ambulatorios.

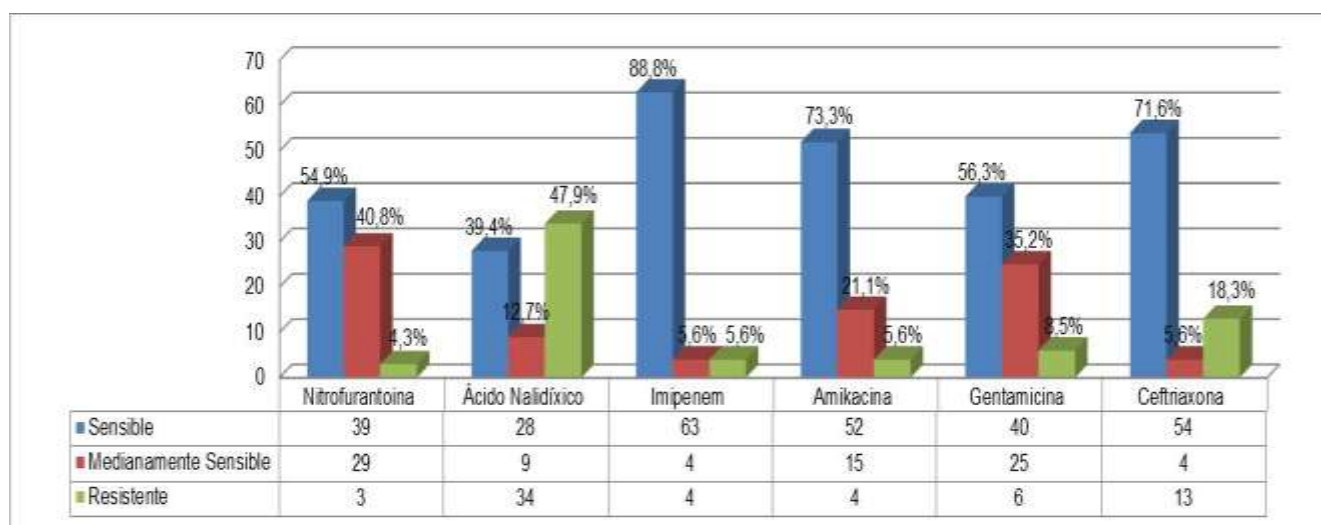
Antibióticos	Sensible	%	Medianamente Sensible	%	Resistente	%	Total
Nitrofurantoína	39	54,9	29	40,8	3	4,3	71
Ácido Nalidíxico	28	39,4	9	12,7	34	47,9	71
Imipenem	63	88,8	4	5,6	4	5,6	71
Amikacina	52	73,3	15	21,1	4	5,6	71
Gentamicina	40	56,3	25	35,2	6	8,5	71
Ceftriaxona	54	76,1	4	5,6	13	18,3	71

Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Gráfica N.- 2

Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos utilizados en urocultivos realizados a pacientes ambulatorios.



Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Análisis e interpretación.

De un total de 71 urocultivos realizados a pacientes ambulatorios, en 34 urocultivos se observó resistencia al Acido Nalidíxico (30 mcg) de *Escherichia coli*, en 13 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), en 6 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg), en 4 urocultivos resistencia a Imipenem (10 mcg) y Amikacina (30 mcg), y 3 urocultivos resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg).

Tabla N.- 3

Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos utilizados en urocultivos realizados a pacientes hospitalizados.

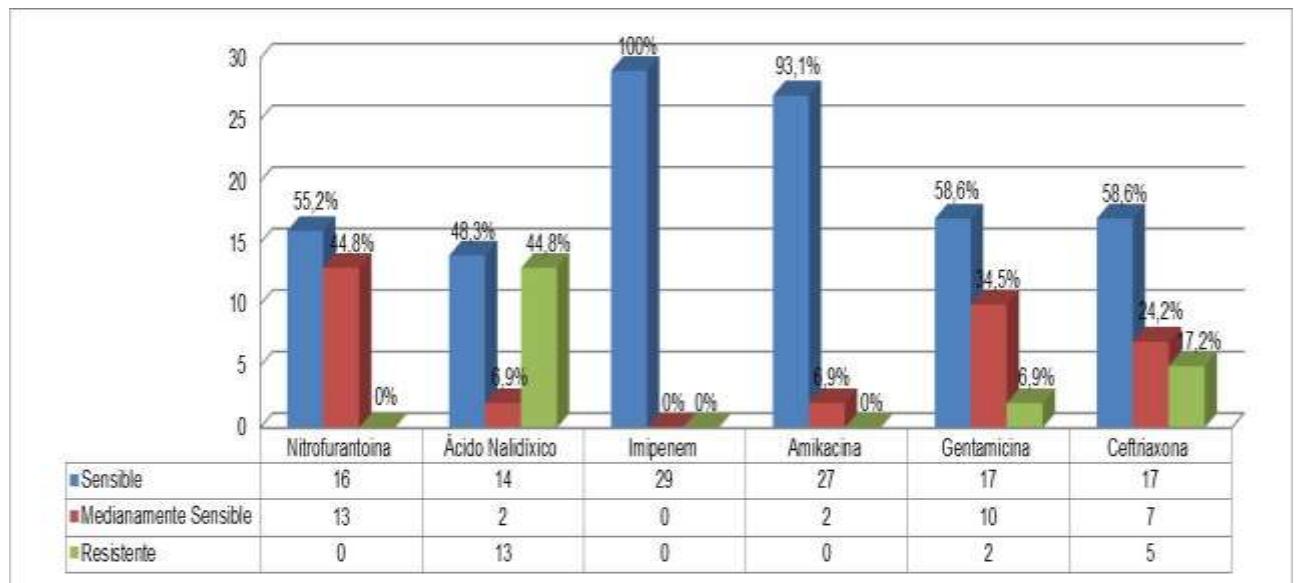
Antibióticos	Sensible	%	Medianamente Sensible	%	Resistente	%	Total
Nitrofurantoína	16	55,2	13	44,8	0	0	29
Ácido Nalidíxico	14	48,3	2	6,9	13	44,8	29
Imipenem	29	100,0	0	0	0	0	29
Amikacina	27	93,1	2	6,9	0	0	29
Gentamicina	17	58,6	10	34,5	2	6,9	29
Ceftriaxona	17	58,6	7	24,2	5	17,2	29

Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Gráfica N.- 3

Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos utilizados en urocultivos realizados a pacientes hospitalizados.



Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Análisis e interpretación.

De un total de 29 urocultivos realizados a pacientes hospitalizados, en 13 se observó resistencia al Acido Nalidíxico (30 mcg) de *Escherichia coli*, en 5 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), y en 2 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg).

Tabla N.- 4

Distribución de la población según el grupo etáreo.

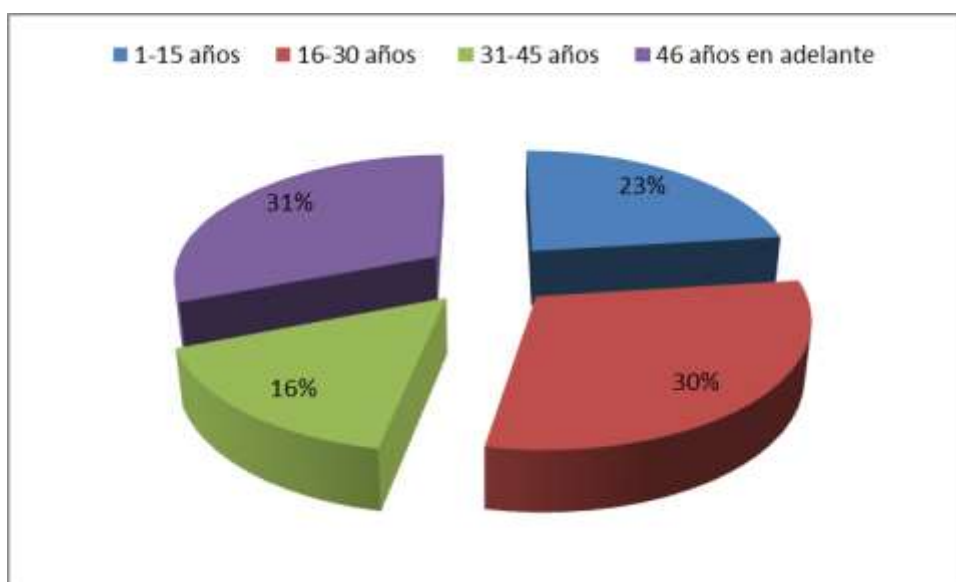
Grupo etáreo	Frecuencia	Porcentaje
1-15 años	23	23,0%
16-30 años	30	30,0%
31-45 años	16	16,0%
46 años en adelante	31	31,0%
Total	100	100,0%

Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Gráfica N.- 4

Distribución de la población según el grupo etáreo.



Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Análisis e interpretación.

De un total de 100 pacientes tanto ambulatorios como hospitalizados, 31 de ellos son mayores de 46 años de edad, 30 tienen entre 16 y 30 años, 23 tienen entre 1 y 15 años, y 16 tienen entre 31 y 45 años; situando a las personas adultas mayores como el grupo etáreo que con mayor frecuencia padecen de infecciones del tracto urinario.

Tabla N.- 5

Resistencia a antibióticos en aislamientos de *Escherichia coli* en urocultivos de pacientes según el grupo etáreo.

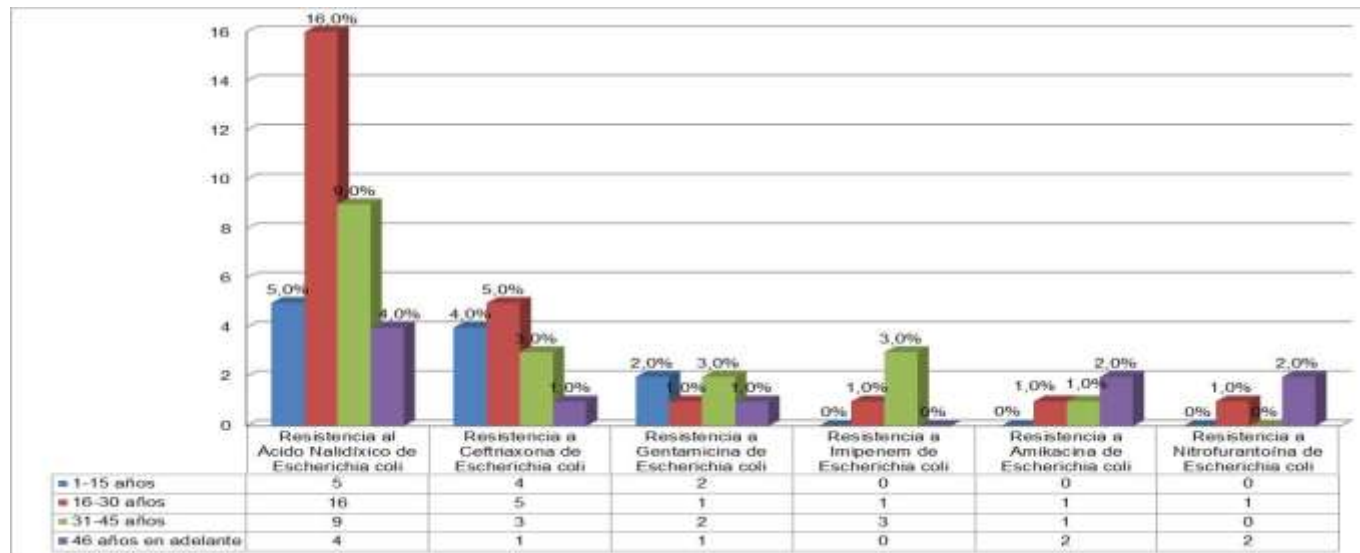
Grupo Etáreo de personas a quienes se realizó urocultivos	Resistencia al Ácido Nalidíxico de <i>Escherichia coli</i>		Resistencia a Ceftriaxona de <i>Escherichia coli</i>		Resistencia a Gentamicina de <i>Escherichia coli</i>		Resistencia a Imipenem de <i>Escherichia coli</i>		Resistencia a Amikacina de <i>Escherichia coli</i>		Resistencia a Nitrofurantoína de <i>Escherichia coli</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
1-15 años	5	5,0%	4	4,0%	2	2,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
16-30 años	16	16,0%	5	5,0%	1	1,0%	1	1,0%	1	1,0%	1	1,0%
31-45 años	9	9,0%	3	3,0%	2	2,0%	3	3,0%	1	1,0%	0	0,0%
46 años en adelante	4	4,0%	1	1,0%	1	1,0%	0	0,0%	2	2,0%	2	2,0%
Total	34	34,0%	13	13,0%	6	6,0%	4	4,0%	4	4,0%	3	3,0%

Fuente: Hoja para el registro de resultados del Laboratorio Clínico, Hospital Isidro Ayora.

Autor: Andrea Elizabeth Michay Curipoma.

Gráfica N.- 5

Resistencia a antibióticos en aislamientos de *Escherichia coli* en urocultivos de pacientes según el grupo etáreo.



Análisis e interpretación.

En 16 urocultivos de pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró resistencia al Ácido Nalidíxico (30 mcg) de *Escherichia coli*, en 5 urocultivos de pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró resistencia a Ceftriaxona (30 mcg) de *E. coli*, en 2 urocultivos de pacientes entre 1 y 15 años se registró resistencia a Gentamicina (10 mcg) de *E. coli*, en 3 urocultivos de pacientes entre 31 y 45 años se registró resistencia a Imipenem (10 mcg) de *E. coli*, en 2 urocultivos de pacientes mayor a 46 años se registro resistencia a Amikacina (30 mcg) de *E. coli*, y en 2 urocultivos de pacientes mayor a 46 años se registro resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg) de *E. coli*.

VI. DISCUSIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son de las más frecuentes en atención primaria, se dividen en hospitalarias relacionadas con el cateterismo vesical y las ajenas al mismo (ambulatorias). Estas infecciones tienen una elevada incidencia y habitualmente son leves, por lo que en la mayoría de los casos, la prescripción de un tratamiento se realiza de forma empírica, antes de disponer de los resultados microbiológicos.

En las infecciones del tracto urinario bajas (ITUB) no complicadas adquiridas en la comunidad *Escherichia coli* es el principal patógeno, con una incidencia entre un 75 y un 90 % de los aislamientos. En muchos casos, estas infecciones se manejan de forma efectiva y segura empleando una terapia antibiótica empírica, sin necesidad de un cultivo de orina. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos empleados en urocultivos de pacientes ambulatorios y hospitalizados, y establecer su relación con la edad del paciente.

Una vez concluida la investigación, de 71 urocultivos realizados a pacientes ambulatorios, en 34 se observó resistencia de *Escherichia coli* al Ácido Nalidíxico (30 mcg), en 13 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), en 6 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg), en 4 urocultivos resistencia a Imipenem (10 mcg) y Amikacina (30 mcg), y 3 urocultivos resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg); mientras que de 29 urocultivos realizados a pacientes hospitalizados, en 13 se observó resistencia de *E. coli* al Ácido Nalidíxico (30 mcg) , en 5 urocultivos resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), y en 2 urocultivos resistencia a Gentamicina (10 mcg). En el presente estudio, las personas mayores de 46 años de edad fue el grupo etáreo que con mayor frecuencia padecen de infecciones del tracto urinario, siendo *Escherichia coli* el microorganismo aislado con mayor frecuencia del urocultivo.

En 16 urocultivos de pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró la mayor frecuencia de resistencia de *Escherichia coli* al Ácido Nalidíxico en una concentración de 30 microgramos (30 mcg), en 5 urocultivos de pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró resistencia a Ceftriaxona (30 mcg), en 2 urocultivos de pacientes entre 1 y 15 años se registró resistencia a

Gentamicina (10 mcg), en 3 urocultivos de pacientes entre 31 y 45 años se registró resistencia a Imipenem (10 mcg), en 2 urocultivos de pacientes mayor a 46 años se registro resistencia a Amikacina (30 mcg), y en 2 urocultivos de pacientes mayor a 46 años se registro resistencia a Nitrofurantoína (300 mcg).

Lo destacable del presente estudio, es reportar la resistencia del bacilo gramnegativo *E. coli* a quinolonas como el Acido Nalidíxico (30 mcg), cefalosporinas de tercera generación como la Ceftriaxona (30 mcg), a los aminoglucósidos como Gentamicina (10 mcg) y Amikacina (30 mcg), al antibiótico betalactámico Imipenem (10 mcg), y a la sulfamida Nitrofurantoína (300 mcg), dichos fármacos son frecuentemente utilizados en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, y que por lo ya mencionado no tendrían el mismo efecto en la recuperación de la salud del paciente. Por lo tanto, se debe realizar un estudio más exhaustivo para notificar los casos en los que se reportan que el tratamiento con ciertos antibióticos ya no tiene el mismo efecto previsto, y que se debe controlar su administración.

El seguimiento de un protocolo o algoritmo disminuye la variabilidad en el manejo y los errores en la práctica clínica. En este caso es una herramienta para el uso correcto y racional de antibióticos con el fin de no generar resistencia. Se deben apoyar y fortalecer las iniciativas de seguimiento de la resistencia bacteriana, pues es indispensable para la toma acertada de decisiones clínicas en el manejo de procesos infecciosos. El MSP debe ejercer su rol de rector para favorecer el uso de guías de práctica clínica y protocolos y prohibir el expendio de antibióticos sin receta médica, así también los médicos deben enseñar a los pacientes por qué y cuándo tomar antibióticos.

En la Habana- Cuba, Juan Muiños quien investigó la sensibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos utilizados en el tratamiento empírico de infección no complicada del tracto urinario y su relación con la edad. Se identificaron en general 138 *Escherichia coli* (71,5 %), 18 *Proteus sp.* (9,3 %), 17 *Enterobacter sp.* (8,8 %), 11 *Klebsiella sp.* (5,7 %) y 9 *Citrobacter sp.* (4,7 %). Los antibióticos empleados fueron: ampicilina, sulfametoxazol + trimetropim, Ácido Nalidíxico, Ciprofloxacina, Nitrofurantoína, Amikacina,

cloranfenicol, Gentamicina, cefazolina, Ceftriazona y kanamicina. En general *Escherichia coli* mostró baja resistencia a Amikacina, Ceftriazona, Nitrofurantoína, cefazolina y cloranfenicol. Se comprobó que la resistencia de *Escherichia coli* está relacionada con la edad para ampicilina, cefazolina, sulfametoxazol + trimetoprim y Ciprofloxacina. Para el resto de los antibióticos probados no se observaron diferencias significativas. Casi la totalidad de los aislados de *Escherichia coli* fueron sensibles a Nitrofurantoína, por lo que constituye una alternativa eficaz a tener en cuenta, ante la elevada resistencia a otros agentes antimicrobianos. **(23)**. En comparación con la investigación descrita, existe similitud en cuanto a que *E. coli* es el principal agente patógeno aislado de cultivos de orina, y que existió baja resistencia de *E. coli* a Nitrofurantoína y Amikacina, pero difiere en cuanto a la Ceftriaxona, Ácido Nalidíxico, pues estos fármacos resultaron no eficaces, pues la bacteria mostró resistencia significativa.

En Bogotá- Colombia, Gómez et al, investigaron sobre frecuencia de germen encontrado en cultivos de pacientes con sospecha de infección urinaria adquirida en la comunidad e intra-hospitalario. Una vez obtenidos estos cultivos se clasificaron los gérmenes según su frecuencia de presentación, origen hospitalario o en la comunidad y perfil de resistencia antimicrobiana del germen más frecuente. Se revisan 2.312 urocultivos. *E. coli* es el principal germen encontrado con 62.58% aislamientos, seguido por *Enterococo faecalis* 12.33%, *Proteus sp.* 8.74% y *Klebsiella pneumoniae* 6.83%. La resistencia del *E. coli* a antibióticos como trimetoprim-sulfametoxazol es de 43.4%, quinolonas como la Ciprofloxacina 31.4%, ampicilina (51.9%) y ampicilina-sulbactam 32.2%. Antibióticos con bajas resistencias fueron: Nitrofurantoína (1.7%), cefalosporinas de primera (8.76%), segunda (7.5%) y tercera generación (2.1%) **(24)**. Con el presente estudio, existe semejanza en cuanto a que *E. coli* sigue siendo el germen más frecuentemente encontrado en urocultivos de pacientes con sospecha de infección urinaria tanto intra como extra hospitalaria, sin embargo otros gérmenes han aumentado su frecuencia. Las resistencias a trimetoprim sulfa y quinolonas son dramáticas lo cual nos obliga a revisar el perfil de resistencia local en cada hospital y seguramente replantear las guías de manejo de infección urinaria.

En un estudio denominado patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital de SOLCA de Loja en el 2010, realizado por Liliana Guadalima se encontró que *E. coli* fue el germen aislado con mayor frecuencia de urocultivos, los niveles de resistencia para Claritromicina, Penicilina y Colistin 100%; Amoxicilina/Ácido Clavulánico 83%; Lincomicina 80%; Cefuroxima y Ácido Nalidíxico 78%; Ampicilina, Piperacilina/Tazobactam y Ceftriaxona 75%; Cefalexina, Amoxicilina y Norfloxacin 67%; Levofloxacin 58%; Ampicilina/Sulbactam 56%; Cefadroxil y Clindamicina 55%; Trimetoprim/Sulfametoxazol 54%; Ofloxacin, Cefazolina y Ciprofloxacino 50%; Oxacilina 40%; Dicloxacilina, Vancomicina e Imipenem 33%; Netilmicina 30%; Gentamicina 26%; Amikacina y Azitromicina 20%; Nitrofurantoína 18%; Fosfomicina y Tetraciclina 14%; Eritromicina 7% **(25)**. Los resultados presentados difieren en cuanto a la variedad de antibióticos empleados en el antibiograma, pero los patrones de resistencia reportados son similares en lo que se refiere al Ácido Nalidíxico, Ceftriaxona, Imipenem, y Nitrofurantoína.

Las guías internacionales, como la de la Asociación Americana de Urología, recomiendan el uso de trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX) como el antibiótico de elección para el tratamiento de IVU no complicadas. Sin embargo este no debe utilizarse como antibiótico de primera elección en poblaciones con *Escherichia coli* con resistencia superior a 20%. En Quito, según datos generados por el laboratorio de microbiología del hospital Vozandes Quito, la resistencia a *E. coli* fue de 54,7%. Para Quito el antibiótico de primera elección debe ser Nitrofurantoína, por su efectividad, bajo costo y seguridad. Según datos del hospital Vozandes, la resistencia de *E. coli* a Nitrofurantoína es de apenas 4,3%.

La automedicación y el abuso de fármacos generan resistencias, lo que origina un problema de difícil solución. Los nuevos avances farmacológicos inciden en el desarrollo de antibióticos que presentan bajos niveles de resistencia, pero su empleo excesivo provoca que en poco tiempo generen resistencias y, por lo tanto, pierdan eficacia.

Para reducir la automedicación y el abuso de antibióticos es importante que el médico informe al paciente acerca de su enfermedad y de la antibioticoterapia que le prescribe, además de los riesgos que conlleva el uso reiterado de los fármacos: resistencias, pérdida de eficacia, etc.

Otro aspecto, que podría contribuir a fomentar un uso más adecuado de la antibioticoterapia, sería incrementar la utilización de determinados antibióticos que tengan una buena tolerancia y no presenten muchas resistencias, como la fosfomicina trometamol. Estos antibióticos se han olvidado un poco al aumentar la utilización de medicamentos más nuevos como las últimas quinolonas, cuyo empleo continuado genera el desarrollo de resistencias, por lo que en el futuro pueden perder su eficacia ante enfermedades más graves.

El conocimiento periódico y actualizado de los patrones de susceptibilidad microbiana de un área concreta ayuda en la elección de un tratamiento empírico eficaz, disminuye la aparición de resistencias y contribuye a hacer un uso más racional de los antibióticos.

VII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

1. El bacilo gramnegativo *Escherichia coli* es el germen aislado con mayor frecuencia en los urocultivos que afecta tanto a pacientes ambulatorios como hospitalizados entre el 75 y 90% de los casos; lo preocupante es el desarrollo de resistencia a los antibióticos que se emplean en el antibiograma, pues se encontró patrones de resistencia al Ácido Nalidíxico (30 mcg) 47,9%, Ceftriaxona (30 mcg) 18,3%, Gentamicina (10 mcg) 8,5%, Imipenem (10 mcg) y Amikacina (30 mcg) 5,6%, y Nitrofurantoína (300 mcg) 4,3% en los pacientes ambulatorios; mientras que en los pacientes hospitalizados, se observó resistencia de *E. coli* al Acido Nalidíxico (30 mcg) 44,8%, Ceftriaxona (30 mcg) 17,2%, y a Gentamicina (10 mcg) 6,9%.
2. En el presente estudio, las personas mayores de 46 años de edad fue el grupo etáreo que con mayor frecuencia padecen de infecciones del tracto urinario, pero se logró establecer que en los pacientes entre 16 y 30 años de edad se registró la mayor frecuencia de resistencia de *Escherichia coli* al Ácido Nalidíxico que se utilizó a una concentración de 30 microgramos (30 mcg).
3. Se socializó los resultados obtenidos al personal médico, y pacientes que acuden al HRIA, enfatizando la importancia de evitar el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos, las causas y sus consecuencias.

VIII. RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES.

- 1.** Impulsar en los principales hospitales del país a formar parte de la Red de Vigilancia de Resistencia Bacteriana del Ecuador (REDNARBEC) con la finalidad de crear una Red activa y creativa que promueva la conciencia social y de los profesionales de la salud, para la investigación y la promoción de la salud, encaminadas a detener la resistencia a los antibióticos.
- 2.** Enfatizar la prevención y el tratamiento adecuado de las infecciones, que incluya el uso apropiado de antibióticos; con campañas educativas dirigidas por profesionales de la salud debidamente capacitados, para modificar conductas de automedicación antibiótica.
- 3.** Actualizar y crear periódicamente nuevas investigaciones de patrones de sensibilidad bacteriana en la localidad, con la finalidad de conocer datos reales acerca de la resistencia bacteriana a los antibióticos de forma que el personal médico los conozca al momento de prescribir los fármacos.
- 4.** Participar de forma conjunta con la industria farmacéutica para que asuma la promoción responsable de los antimicrobianos y lograr un comportamiento comercial ético.
- 5.** Promover la formación académica de excelencia en estudiantes de la carrera de Laboratorio Clínico respecto al uso de antimicrobianos en los antibiogramas, la resistencia a los mismos, espectro y costo, así como actualizar en forma constante al personal médico y docente vinculados.

IX. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA.

1. Rodríguez E, Vargas B, Olivares P, Bidegain M, Guerrero B, Domic H, Bravo I. Infección del tracto urinario. Rev Chile Pediatr; 61 (Supl 1): 14-6.
2. Forbes Betty, Sahm Daniel, Weissfeld Alice S. Diagnóstico Microbiológico. Undécima edición. Buenos Aires - Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2004.
3. Stull T, LiPuma J. Epidemiology and Natural History of Urinary Tract Infections in Children. Medical Clinics of North America; 75: 287-97.
4. INEC. Diez principales causas de morbilidad femenina. Disponible en: http://www.inec.gov.ec/interna.asp?inc=enc_tabla&idTabla=636200605
5. Prats G. Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. Primera reimpression. Buenos Aires, 2008.
6. Sanford Tood. Davidsohn. Diagnóstico clínico por el laboratorio. Tomo II. 20 va edición. Marbán. Madrid España. 2005
7. Geo F. Brooks. Janet S. Butel, Stephen A Morse. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick, y Adelberg, 25ª edición, México. Mc Graw Hill. 2010.
8. Murray Patrick R. Rosenthal Ken S. Pfaller Michael A. Microbiología Médica, Quinta Edición, Madrid, España. Elsevier Mosby. 2007.
9. Winn, W.C., Allen S.D., Janda, W.M., Koneman E.W., Procop, G.W., Schrenckenberger, P.C. y Woods, G.L. Koneman Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color, 6ª Ed. Editorial Médica Panamericana. 2008.
10. Kasper. Braunwald. Fauci. Hauser. Longo. Jameson. PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA DE HARRISON. 16 ta edición. México. Interamericana McGraw-Hill. 2008.
11. Echevarria-Zarate, Juan, Sarmiento Aguilar, Elsa y Osorez-Plenge, Fernando. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Med. Peruana. [Online]. Ene. /Abr. 2006, vol.23, no.1 [citado 17 Febrero 2012], p.26-31. Disponible en la World Wide Web: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172006000100006&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1728-5917.
12. Jiménez, R. Diagnóstico de infección del tracto urinario. Unidad de Nefrología Infantil, Hospital Son Dureta. Disponible en:

http://www.sepeap.org/imagenes/secciones/Image/_USER_/Expertos_infecciones_urinarias_diagnostico_tracto_urinario.pdf

13. Murillo-Rojas Olga A., Leal-Castro Aura L., Eslava-Schmalbach Javier H. Uso de antibióticos en infección de vías urinarias en una unidad de primer nivel de atención en salud, Bogotá, Colombia. Rev. Salud Pública [serial on the Internet]. 2006 July [cited 2012 Feb 17]; 8(2): 170-181.
14. Mc Faddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana; 2003.
15. Carbone, F. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30 Lima. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf
16. Zaragoza. R. Crespo. C. Gimeno J. Pemán. M. Salavert. Microbiología aplicada al paciente crítico. Editorial Médica Panamericana; 2008.
17. Struthers J Keith. Westran Rogers P. Bacteriología Clínica, Barcelona, España; Editorial Masson; 2005.
18. Zurita J. Red Nacional de Vigilancia de Resistencia Bacteriana. Ecuador. Boletín de la Red. Informe No 1.
19. Campoverde N, 2008, “La diversidad de caras de las bacterias”, Taller-Seminario Internacional Restablecer la salud de los ecosistemas para contener la resistencia bacteriana, 94-103.
20. Goodman E Glimaan; Las bases farmacológicas de la terapéutica; 2007.
21. Solórzano Armando, et al, 2008, Sensibilidad y Resistencia, vigilancia antibiótica.htm.
22. Benavides-Plascencia L, Aldama-Ojeda AL, Vázquez HJ. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. Salud Publica Méx 2005; 47:219-226.
23. Muiños, J. Resistencia a antibióticos en aislamientos de *Escherichia coli* en infecciones del tracto urinario inferior adquiridas en la comunidad: diferencias en relación con la edad. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 39, No. 3, 2008.

Disponible en:

<http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/08%20Art%C3%ADculo%20No%206%20pp179-182.pdf>

- 24.** Gómez, E. Resistencia de la *E.coli* en urocultivos de pacientes con sospecha de infección urinaria intra y extra-hospitalaria en la Fundación Santa Fe de Bogotá. Urol. Colomb. Vol. XVIII, No. 1: pp 53-58, 2009.

Disponible en:

<http://www.urologiacolombiana.com/revistas/abril-2009/009.pdf>

- 25.** Guadalima, L. Patrones de resistencia bacteriana de los microorganismos más comunes en el hospital de SOLCA de Loja en los meses de junio a noviembre de 2010. Disponible en:

<http://cepra.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/4339/1/TESIS%20Guadalima%20Liliana.pdf>

X. ANEXOS

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1** Oficio al Director del Hospital Provincial Isidro Ayora de Loja.
- Anexo 2** Oficio a la Jefa del laboratorio del HIA.
- Anexo 3** Recomendaciones para la obtención de la muestra de orina
- Anexo 4** Recomendaciones para el transporte y almacenamiento de la muestra
- Anexo 5** Criterios para el rechazo de la muestra.
- Anexo 6** Recolección y verificación de datos
- Anexo 7** Examen General de Orina.
- Anexo 8** Tinción Gram.
- Anexo 9** Protocolo para la preparación de Agar CLED.
- Anexo 10** Protocolo para la preparación de Agar EMB.
- Anexo 11** Protocolo para la preparación de Agar MACCONKEY.
- Anexo 12** Protocolo para la preparación de Agar SANGRE.
- Anexo 13** Protocolo para la preparación de Agar MUELLER HINTON
- Anexo 14** Técnica de Kass para la siembra de orina.
- Anexo 15.** Protocolo para la preparación e inoculación de Agar TSI.
- Anexo 16** Protocolo para la preparación e inoculación de Agar SIM.
- Anexo 17** Protocolo para la preparación e inoculación de Agar UREA.
- Anexo 18** Protocolo para la preparación e inoculación de Agar CITRATO
- Anexo 19** Identificación bioquímica de bacterias más frecuentes
- Anexo 20** Hoja de reporte de resultados.
- Anexo 21** Fotografías de la investigación

ANEXO 3

INSTRUCCIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA EN ADULTOS:

Recolección de Muestras en Mujeres:

1. La muestra debe ser tomada preferentemente en el Laboratorio. Si ello no es posible, seguir las mismas instrucciones en su casa.
2. Debe hacerse una antisepsia previa de la zona genital, por lo tanto debe tener a la mano lo siguiente: a) jabón desinfectante; b) agua hervida o agua estéril; c) gasa estéril o un paño acabado de lavar; y d) el recipiente para tomar la muestra.
3. Proceda primero a lavarse las manos y luego siéntese en el inodoro, lo más hacia atrás que pueda. Separe los labios genitales con una mano y mantenga los pliegues separados y proceda a asearse toda la zona genital con el jabón desinfectante. Enjuague con abundante agua estéril y luego seque bien con gasa estéril o con un paño limpio.
4. Proceda a recoger la orina, destapando previamente el frasco SÓLO EN EL MOMENTO DE LA MICCIÓN y sin tocar con los dedos su interior, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo. No toque el interior del recipiente o de la tapa. Empiece a orinar en el recipiente y recoja en el, sólo la muestra del chorro del medio es decir, NO DEBE RECOGER NI LA PRIMERA, NI LA ÚLTIMA PARTE DEL CHORRO DE ORINA.
5. Tape muy bien el frasco y rotúlelo con su nombre.
6. Llévelo al Laboratorio lo más pronto posible, en un recipiente con hielo, cuidando de que no se derrame el contenido.

Recolección de Muestra en hombres:

1. La muestra debe ser tomada preferentemente en el Laboratorio. Si ello no es posible, seguir las mismas instrucciones en su casa.
2. Debe hacerse una antisepsia previa de la zona genital, por lo tanto debe tener a la mano lo siguiente: a) jabón desinfectante; b) agua hervida o agua estéril a temperatura ambiente; c) gasa estéril o un paño acabado de lavar; y d) el recipiente para tomar la muestra.
3. Lavarse con jabón desinfectante primero las manos y luego la cabeza del pene empezando por la abertura uretral y continúe en dirección a usted, como muestra la ilustración, previa retracción del prepucio, si no está circuncidado.
4. Luego enjuagar bien con agua estéril o previamente hervida (a temperatura ambiente) y secar con gasa estéril o con un paño recién lavado.
5. Destape el recolector de orina, sólo en el momento de la micción y sin tocar con los dedos su parte interna, coloque la tapa con el lado plano hacia abajo. Comience a orinar en el recolector y recoja en el sólo la muestra del chorro del medio, es decir, **NO DEBE RECOGER NI LA PRIMERA NI LA ÚLTIMA PARTE DEL CHORRO DE ORINA.**
6. Tapar bien el frasco, rotularlo con su nombre y traerlo al laboratorio lo más pronto posible, en un recipiente con hielo y cuidando de que no se derrame.

INSTRUCCIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA EN NIÑOS:

Las muestras en los niños de corta edad se recogen con un sistema que consta de una bolsa de plástico con un adhesivo para que el niño orine directamente en la bolsa.

1. Limpiar el área genital con agua y jabón. Eliminar restos de jabón y secar. No aplicar cremas, ni aceites.
2. Separar las paredes de la bolsa, para que la orina fluya con facilidad y retirar el adhesivo con cuidado.
3. Colocar la bolsa alrededor de la vagina o del pene y presionar el adhesivo firmemente a la piel.
4. No se debe de mantener la bolsa colocada más de 30-60 minutos. Cambiar la bolsa por una nueva si no ha orinado.
5. Cuando haya orina, quitar la bolsa, cerrarla y enviarla al laboratorio inmediatamente.
6. Muestras de orina en las que NO interesa el análisis bacteriológico: En estos casos no es necesario realizar un lavado de la zona adyacente al orificio uretral, ni utilizar un recipiente estéril.
7. Almacenamiento de la muestra: Cuando el transporte de la muestra al laboratorio se demore mas de una hora, se debe de refrigerar en nevera hasta un máximo de 24 horas.

ANEXO 4

TRANSPORTE Y ALAMCENAMIENTO DE LA MUESTRA

- Las muestras deben enviarse al laboratorio inmediatamente después de haber sido obtenidas para su procesamiento, con el objetivo de incrementar la probabilidad de recuperación de los microorganismos involucrados en el proceso infeccioso.

- Si la muestra no puede ser analizada dentro de las 2 horas posteriores a su recolección, esta debe ser refrigerada a 4° C por un periodo de 24 horas como máximo hasta el momento de su procesamiento.

- Las muestras se colocan en un recipiente secundario apropiado para su transporte al laboratorio.

- En el transporte de muestras se debe tener siempre en cuenta, que cualquier tipo de espécimen representa un riesgo biológico

ANEXO 5

CRITERIOS PARA EL RECHAZO DE LA MUESTRA

Se debe poner especial cuidado a la hoja de pedido y etiqueta de la muestra. Observando si esta cumple con la información esencial sobre el paciente.

Antes de rechazar una muestra debido a una información inapropiada o incompleta, debe establecerse contacto con la persona responsable para efectuar las correcciones necesarias para así poder completar la información.

Es necesario seguir estrictamente los procedimientos descritos, ya que la muestra obtenida puede ser rechazada por el personal de laboratorio de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ No indicar tipo de examen en la orden
- ✓ Inadecuada temperatura de transporte
- ✓ Demora en el envío al laboratorio
- ✓ Medio de transporte inadecuado
- ✓ Muestra sin rotular o mal rotulada
- ✓ Muestra que tenga evidencias de haberse derramado
- ✓ Recipiente inadecuado (con rajaduras por ejemplo)
- ✓ Muestra con contaminación obvia
- ✓ Volumen inadecuado

En casos de muestras rechazadas el personal de laboratorio debe explicar al médico solicitante las razones y observaciones en la ficha de solicitud de diagnóstico correspondiente. En el caso de muestras que no puedan volver a tomarse, se puede admitir la muestra, emitiendo una notificación sobre la recepción de la muestra.

ANEXO 6

REGISTRO DE PACIENTES

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CÓDIGO									
EDAD									
SEXO									
SECCIÓN									
GERMEN AISLADO									
ESCHERICHIA COLI									
BATERIA DE ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS									
AMIKACINA									
ACIDO NALIDÍXICO									
CEFTRIAXONA									
GENTAMICINA									
IMIPENEN									
NITROFURANTOINA									
CIPROFLOXACINA									
SXT									

RESPONSABLE

FECHA

FIRMA

1 Sensible
 2 Medianamente
 Sensible
 3 Resistente

ANEXO 7

EXAMEN GENERAL DE ORINA (11)

Examen físico:

- * Colocamos 10ml de orina en un tubo de ensayo y describimos las características físicas que constan de: aspecto, color, olor. La muestra de orina recolectada fue fresca, cuidadosamente mezclada, no centrifugada.

Examen químico:

- * Se realizó de la siguiente manera:
- * Homogenización de la muestra.
- * Examen con la tira reactiva Combur 10 de la casa comercial Roche, la cual se sumergió brevemente en la orina para que de esta manera se humedezca toda la tirilla, desechando el exceso al pasar al tirilla por el borde del recipiente
- * Pasados 30 o 60 segundos se comparó al tirilla con la cartilla proporcionada por la casa comercial, evaluando así la orina por las reacciones del color.(glucosa, nitritos hemoglobina, sangre etc)

Sedimento urinario:

- ◆ Colocamos 10ml de orina en tubo de ensayo,
- ◆ Centrifugamos por 5 minutos a 2.000 rpm,
- ◆ Se eliminó el sobrenadante,
- ◆ Se colocó de una gota de sedimento aproximadamente 50ul en una placa cubriéndola con la laminilla
- ◆ se observó el sedimento y se reportó los elementos (células epiteliales, leucocitos, piocitos, bacterias) encontrados en la orina a 40x

ANEXO 8

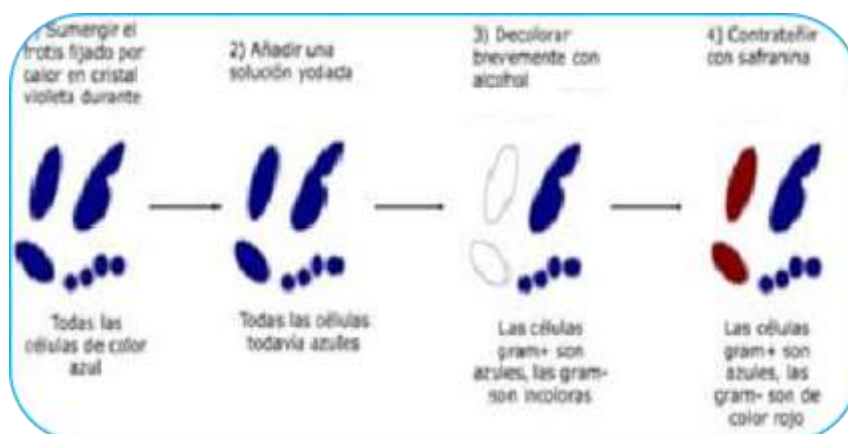
TINCIÓN GRAM (26)

Se utiliza tanto para referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana

PROCEDIMIENTO

- Se hace un extendido de la muestra en estudio dejando secar a temperatura ambiente
- Posteriormente se fija la muestra al calor
- Se le agrega azul violeta (violeta de genciana) por alrededor de un 1 minuto y se enjuaga con agua.
- Adicionamos lugol, esperamos 1 minuto y se enjuaga
- Luego agregamos alcohol acetona, esperamos entre 20 y 30 segundos y enjuagamos.
- Finalmente se añadimos safranina o fucsina básica, 30 segundos minutos y se enjuaga

Para observar al microscopio óptico es conveniente hacerlo a 100x en aceite de inmersión.



ANEXO 9

AGAR CISTINA-LACTOSA DEFICIENTE EN ELECTRÓLITOS O CLED

Fundamento: El Azul de Bromotimol cambia de color por la fermentación ácida de la Lactosa. La Cistina favorece el crecimiento de las Enterobacteriáceas y el bajo contenido en electrolitos reduce la difusión de Proteus. Las peptonas, el extracto de carne y la Lactosa constituyen los elementos nutrientes del medio. Los fermentadores de colonias producen colonias amarillas en el agar de CLED; las NO fermentadoras de lactosa dan colonias azules.

Fórmula (por litro)

Azul de Bromotimol	0,02 g
L-Cistina	0,128 g
Extracto de Carne	3,0 g
Lactosa	10,0 g
Peptona de Caseína	4,0 g
Peptona de Gelatina	4,0 g
Agar	15,0 g

Preparación

Suspender 36,1 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

Modo de empleo

Sembrar por estría en la superficie del medio. Incubar a 37°C de 18 a 24 horas.

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino.

Color: beige verdoso.

Solubilidad: total.

pH: 7,3 ±0,2

ANEXO 10

AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (Levine ó EMB)

Fundamento: Por la combinación de estos dos colorantes y los dos hidratos de carbono se pueden distinguir algunos géneros. Las bacterias lactosa-negativas y sacarosa negativas (*Salmonella* y *Shigella*) dan colonias incoloras, mientras que las lactosa y/o sacarosa-positivas dan colonias púrpura-violeta negrozco con/sin un centro oscuro y quedan rodeadas de una zona incolora. Por el efecto de estos mismos colorantes también queda inhibido el crecimiento de la microflora acompañante, sobre todo la Gram-positiva.

Fórmula (por litro)

Eosina Amarillenta	0,4 g
Azul de Metileno	0,065 g
Lactosa	5,0 g
Peptona Bacteriológica	10,0 g
di-Potasio Hidrógeno Fosfato	2,0 g
Sacarosa	5,0 g
Agar1	3,5 g

Preparación

Suspender 36 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. No sobrecalentar. Distribuir y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Modo de empleo

Sembrar en la superficie del medio. Incubar entre 35° y 37°C de 18 a 24 horas.

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino.

Color: púrpura rosado.

Solubilidad: opalescente con precipitado.

pH: 7,2 ±0,2

ANEXO 11

AGAR MACKONKEY

Fundamento: En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva. Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares. Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras.

Fórmula (por litro)

Peptona	17.0g
Pluripeptona	3.0 g
Lactosa	10.0 g
Mezcla se sales biliares	1.5g
Cloruro de Sodio	5.0g
Agar	13.5g
Rojo neutro	0.03g
Cristal violeta	0.001g

Preparación

Suspender 50 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar suavemente y hervir 1 a 2 minutos hasta disolver. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Modo de empleo

Sembrar por estría en la superficie del medio. Incubar a 37°C de 18 a 24 horas.

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino.

Color: rojo púrpura

pH: 7.1 ± 0.2

ANEXO 12

AGAR SANGRE

Fundamento

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agregado de sangre al medio de cultivo, en concentración final de 5-10 %, aporta nutrientes para el crecimiento bacteriano, y permite detectar hemólisis.

Fórmula (por litro)

Infusión de musculo de corazón	375g
Peptona	10g
Cloruro de Sodio	5g
Agar	15.0

Preparación

Suspender 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto. Esterilizar 15 minutos a 121°C. Enfriar a 45-50°C agregar sangre desfibrinada al 5%. Homogeneizar y distribuir en placas.

Modo de empleo

Sembrar por estría en la superficie del medio. Incubar a 37°C de 18 a 24 horas.

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino.

Medio preparado: ámbar.

Medio preparado con 5% de sangre de carnero: rojo cereza.

pH final: 7.3 ± 0.2

ANEXO 13

AGAR MUELLER HINTON

Fundamento

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), ex National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), recomendó su uso en forma rutinaria para la realización del antibiograma en medio sólido, debido a una serie de factores que se detallan a continuación: presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo. Cuando se suplementa con san gre de carnero al 5%, es útil para realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos.

Fórmula (por litro)

Infusión de carne	300.0 g
Peptona ácida de caseína	17.5 g
Almidón	1.5 g
Agar	15.0 g

Preparación

Suspender 37 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Dejar embeber de 10 a 15 minutos. Calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°-50°C y distribuir a cajas de Petri (o agregar los suplementos que se desee) hasta un nivel de 4 mm sobre una superficie horizontal (25-30 ml en placas de 9 cm de diámetro).

Modo de empleo

Sembrar en la superficie del medio mediante la técnica de plateado. Incubar a 37°C de 18 a 24 horas.

Control físico-químico

Medio preparado: ámbar.

pH final: 7.3 ± 0.1

DISCOS EMPLEADOS

- ◆ NITROFURANTOINA: un nitrofurano antibacteriano que se utiliza específicamente para el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes gram-negativos y por algunos gram-positivos.
- ◆ CEFTRIAXONA: es un antibiótico de la clase cefalosporinas de tercera generación, por lo que tiene acciones de amplio espectro en contra de bacterias Gram negativas y Gram positivas.
- ◆ IMIPENEM: Pertenece al subgrupo de los carbapenem. El imipenem interfiere con la síntesis de la pared celular de las bacterias sensibles. El imipenem tiene un gran espectro antibacteriano que incluye bacterias Gram-negativas, tanto aerobias como anaerobias.
- ◆ GENTAMICINA: es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro. Actúa sobre bacterias gramnegativas aerobias, incluyendo enterobacteriáceas, *Pseudomonas* y *Haemophilus*. Carece de actividad sobre bacterias anaerobias.
- ◆ AMIKACINA: es un antibiótico bactericida del grupo de los aminoglucósidos, usado en el tratamiento de diferentes infecciones bacterianas.¹ Actúa uniéndose a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, impidiendo la lectura del mARN y conduciendo a la bacteria a la imposibilidad de sintetizar proteínas necesarias para su crecimiento y desarrollo.
- ◆ ACIDO NALIDIXICO: es un antibiótico del grupo de las quinolonas, activa en contra de Gram negativas. El ácido nalidíxico selectiva y reversiblemente bloquea la replicación del ADN bacteriano, por medio de la inhibición de una subunidad de la enzima girasa del ADN induciendo la formación de un complejo enzimático ineficaz.

ANEXO 14

UROCULTIVO (11)

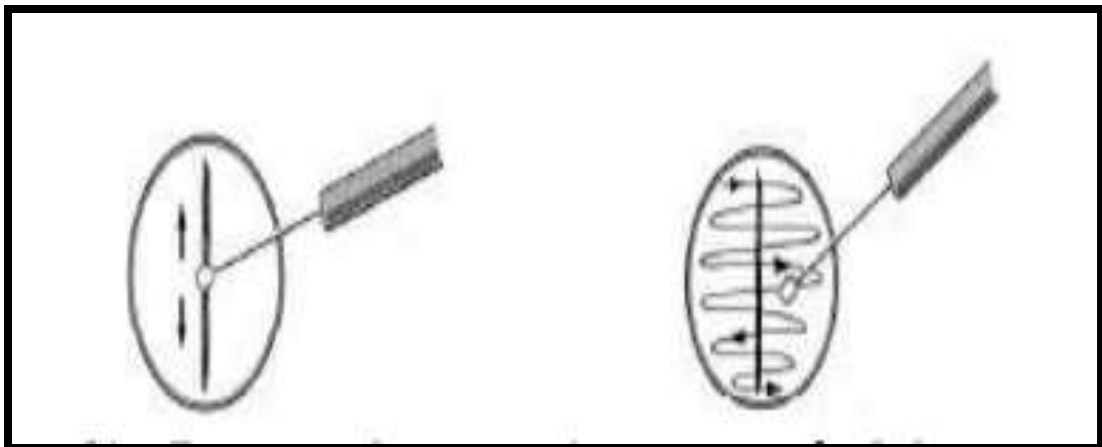
El urocultivo se realiza para diagnosticar bacteriuria, la orina constituye el método excelente para cultivar la mayor parte de microorganismos que infectan el aparato urinario. Cuando se halla una combinación de piuria con bacteriuria sugiere a presencia de una infección urinaria.

SIEMBRA

La técnica para el aislamiento comienza preparando un inóculo de siembra, que consiste en colocar una pequeña cantidad de la muestra en el medio o en los medios de cultivo adecuados, en función de las especies microbianas que se espera encontrar.

Técnica de Kass: Método del asa calibrada

- ✓ Se mezcla la orina sin centrifugar en su propio recipiente
- ✓ Se esteriliza un asa de platino calibrada (4 mm de diámetro)
- ✓ Ya con el asa fría se toma una muestra de la orina.
- ✓ Se inocular en los medios seleccionados CLED, EMB, MACCONKEY Y AGAR SANGRE son el patrón de línea recta y luego zig-zag.



INTERPRETACIÓN

Luego de haber incubado las muestras durante 24 a 48 horas se cuenta el número de colonias desarrolladas y el resultado se multiplica por 100, ya que el asa de platino contiene 0.01 ml de orina. Se hace el respectivo reporte de resultados informándolos de la siguiente manera:

- ◆ No hubo crecimiento bacteriano
- ◆ Menos de 10 000 colonias por ml
- ◆ Entre 10 000 y 100 000 colonias por ml
- ◆ Mas de 100 000 colonias por ml

ANEXO 15

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA ENTEROBACTERIAS (16)

AGAR TSI

Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico.

Fundamento

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

Fórmula por litro

Extracto De carne	3g
Pluripeptona	20.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Lactosa	10.0g
Sacarosa	10.0g
Glucosa	1.0g
Sulfato de Hierro y amonio	0.2g
Tiosulfato se sodio	0.2g
Rojo de fenol	0.025g
Agar	13.0g

Preparación

Suspender 62,5 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar con agitación frecuente, hervir 1 o 2 minutos hasta disolución total. Llenar hasta la tercera parte de los tubos de ensayo. Esterilizar a 121°C por 15 minutos. Enfriar en pico de flauta profundo.

Resultados

1. Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.
2. Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.
3. Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares.
4. La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.
5. El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

ANEXO 16

AGAR SIM (Motilidad, Indol, sulfuro de hidrogeno)

En este tipo de agar determina la capacidad de un microorganismo de moverse (presencia e flagelos), de producir INDOL y H₂S. La siembra se realiza con asa recta, por picadura central hasta la mitad del tubo.

Fundamento

En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovac's o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2.

Fórmula por litro

Tripteina	20.0g
Peptona	6.1g
Sulfato de Hierro y amonio	0.2g
Tiosulfato de sodio	0.2g
Agar	3.5g

Preparación

Suspender 30 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto. Distribuir unos 4 ml en tubos de hemólisis y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Solidificar en posición vertical.

Con el asa de platino esterilizada al rojo vivo sobre el mechero, tomar unas colonias del cultivo primario. Sembrar en el medio llevando el asa hasta 5 mm antes de tocar el fondo del tubo.

Resultados

- * El indol se puede detectar en un medio observando el desarrollo de un color rojo después de agregar el reactivo de Erlich o de Kovacs indicando una prueba POSITIVA.
- * Si el color es amarillo indica una prueba NEGATIVA. EL SIM es un medio semisólido sin hidratos de carbono que inhiban la producción de H₂S y tiene tiosulfato de sodio fuente de azufre y hierro peptonado como indicador de H₂S, lo que lo hace más sensible en la detección de H₂S por producción de un precipitado negro de sulfuro ferroso.
- * La movilidad bacteriana se interpreta realizando un cuidadoso examen macroscópico del medio para observar una zona de desarrollo difuso que parte de la línea de inoculación.

ANEXO 17

AGAR UREA

En agar urea se determina la capacidad de un microorganismo de producir UREASA y desdoblar la urea, formando 2 moléculas de amoníaco. La siembra se realiza con asa recta por picadura central hasta la mitad del tubo.

Fundamento

En el medio de cultivo, la tripteína y la glucosa, aportan los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el rojo de fenol es el indicador de pH.

Algunas bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio haciendo virar el rojo de fenol del amarillo al rojo. En este medio, la fermentación de la glucosa activa la enzima ureasa, acelerando la velocidad del metabolismo en aquellos

Fórmula por litro

Tripteína	1.0g
Glucosa	1.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Fosfato monopotásico	2.0g
Rojo de fenol	0.012 g
Agar	15.0 g

Preparación

Suspender 24 g de polvo en 950 ml de agua destilada. Dejar reposar 2 minutos. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 50°C y agregar 50 ml de una solución de urea al 40% previamente esterilizada por filtración o cloroformo. Fraccionar en tubos de hemólisis y solidificar en pico de flauta con fondo profundo.

Con el asa de platino esterilizada al rojo vivo sobre el mechero, tomar unas colonias del cultivo primario. Sembrar en el medio llevando el asa hasta 5 mm antes de tocar el fondo del tubo.

Resultados

El indicador de pH es rojo de fenol, el cual en alcalinidad vira a un color violeta indicando una prueba POSITIVA. Si el color es amarillo indica una prueba NEGATIVA.

ANEXO 18

AGAR CITRATO DE SIMMONS

Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía.

Fundamento

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad.

Fórmula por litro

Citrato de sodio	2.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Fosfato dipotásico	1.0g
Fosfato monoamónico	1.0g
Sulfato de magnesio	0.2g
Azul de bromotimol	0.008g
Agar	15.0g

Preparación

Suspender 24,2 g del medio deshidratado por litro de agua destilada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar en posición inclinada.

Con el asa de platino esterilizada al rojo vivo sobre el mechero, tomar unas colonias del cultivo primario. Sembrar en el medio de citrato por punción hasta

5mm antes de tocar el fondo, retiramos el asa arrastrandola solo en la superficie el pico de flauta del medio.

Resultados

POSITIVA: cuando existe y crecimiento y/o viraje del color en el medio.

NEGATIVA: cuando no se observa cambio de color en el medio y cuando no hay crecimiento.

ANEXO 19

TABLA DE IDENTIFICACIÓN PARA ENTEROBACTERIAS

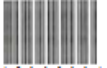
ORGANISMO	MEDIOS DIFERENCIALES				SIM	CITRATO	UREA
	INCLINADA	PLANA	SH2	INDOL	MOVILIDAD	SH2	
Escherichia coli	A	AG	-	+	+	-	-
Proteus vulgaris	A	AG	+	+	+	+	+/-
Proteus mirabilis	K o A	AG	+	-	+	+	+
Pseudomona Aeruginosa	K	K	-	-	+	-	+
Aerobacter aerogenes	A	AG	-	-	+	-	+

ANEXO 20



Hospital Provincial General Isidro Ayora

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Paciente:											
H.C. /Ced.:											* 214011 *
Edad: Sexo:											
Fecha Ingreso:						Origen:	CONSULTA				
Médico: Dr./Dra:	MEDICO GENERAL					Servicio		Fecha		Impresión:	
Habitación:								01/01/1900	00:00		
«RUTINA						RESULTADO					UNIDADES VALORES DE REFERENCIA
»											

MICROBIOLOGÍA

CULTIVO DE FARINGE

Pendiente

ORIGEN DE LA MUESTRA:

MATERIAL BIOLÓGICO:

N° DE MUESTRA:

OBSERVACIONES:

RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA:

SECRECIÓN FARÍNGEA

Resultado:

Microorganismo:

Contaje de colonias:

01/01/1900 00:00

ANEXO 21

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

MATERIAL EMPLEADO



SIEMBRA EN MEDIOS DE CULTIVO



CRECIMIENTO EN MEDIOS DE CULTIVO



PREPARACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS



DISPERSION EN LOS RESPECTIVOS TUBOS



SIEMBRA DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS



CRECIMIENTO BACTERIANO EN PRUEBAS BIOQUÍMICAS



REALIZACIÓN Y LECTURA DEL ANTIBIOGRAMA INOCULACIÓN



SELECCIÓN DE DISCOS Y LECTURA

