



unl

Universidad
Nacional
de Loja

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

Identificación de agentes etiológicos y antibiograma en urocultivos de embarazadas que acuden al Centro de Salud N°1 de Loja

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

AUTORA:

Deysi Marlene Chalan Montenegro

DIRECTORA:

Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR

2022

Certificación del Trabajo de Integración Curricular

Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de integración curricular denominado: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS Y ANTIBIOGRAMA EN UROCULTIVOS DE EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LOJA"**, de autoría de la Srta. Deysi Marlene Chalan Montenegro, previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido supervisada y elaborada bajo mi dirección, consecuentemente ha culminado y aprobado el mismo, por lo que certifico que cumple con los requisitos establecidos por el Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez revisada autorizo para la defensa ante el tribunal de tesis y disertación pública de la misma para la graduación.

Loja, 08 de agosto del 2022

ILIANA
ALICIA
DELGADO

Firmado digitalmente
por ILIANA ALICIA
DELGADO
Fecha: 2022.09.07
11:20:30 -05'00'

Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc

DIRECTORA DE TESIS

Autoría del Trabajo de Integración Curricular

Yo Deysi Marlene Chalan Montenegro declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

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

Firma:



Cedula de Identidad: 1900863216

Fecha: 21 de septiembre del 2022

Correo: deysi.chalan@unl.edu.ec

Celular: 0969635162

Carta de autorización del estudiante

Yo, Deysi Marlene Chalan Montenegro declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular titulado Identificación de agentes etiológicos y antibiograma en urocultivos de embarazadas que acuden al Centro de Salud N° 1 de Loja, como requisito para optar el título de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

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

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de integración curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 21 días del mes de septiembre del dos mil veintidós.

Firma:



Autora: Deysi Marlene Chalan Montenegro

Cédula: 1900863216

Correo: deysi.chalan@unl.edu.ec

Dirección: Avenida Manuel Carrión Pinzano y Nicolosa Jurado

Celular: 0969635162

Datos complementarios:

Directora del Trabajo Integración Curricular: Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc

Tribunal de Grado:

Presidenta del tribunal: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González

Miembro del tribunal: Lic. Ángel Minos Luzón Ramírez

Miembro del tribunal: Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana

Dedicatoria

El presente trabajo lo dedico primeramente a Dios, quien ha estado presente en cada momento de mi vida, que nunca me ha dejado sola, brindándome apoyo desde el primer día que supe que ingresaba a la Universidad, llenándome de mucha fortaleza y sabiduría para culminar mi carrera profesional, un sueño que llevo desde pequeña conmigo; a mi hermana Elizabeth y a mi cuñado Edwin por el apoyo incondicional que siempre me han brindaron; a mis padres Luz y Juvencio quienes han sido el pilar fundamental en mi formación académica y espiritual que con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades; a mis hermanos Nelly, Luis Antonio, Clever, Betty, Denisse, a mis sobrinos Alejandro, Luis Jhair, Yeray y Dorely por su cariño y apoyo, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento ya que son mi motivación para ser mejor; de la misma manera dedico a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas; y, por último a todas las personas, amigas, compañeras, docentes y técnicas docentes que me han apoyado y han hecho que éste trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que me compartieron sus conocimientos.

Deysi Marlene Chalan Montenegro

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a Dios por la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad, debilidad y de felicidad. Gracias a mis padres, hermanos y familia en general por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis capacidades, por los consejos, valores y principios que me han inculcado para poder llegar a culminar de la mejor manera posible una etapa muy importante en mi vida, ser profesional de la salud.

De igual manera quiero agradecer de manera especial a la Lcda. Iliana Alicia Delgado Mg. Sc, principal colaboradora durante todo este proceso quien, con su dirección, conocimiento, enseñanza, colaboración, además de brindarme su tiempo y las instrucciones necesarias para culminar con éxitos el presente trabajo de investigación.

Así mismo quiero expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad de la Salud Humana y de manera especial a la Carrera de Laboratorio Clínico que durante los años de estudio supo forjarnos sabios conocimientos y valores bien formados, para que en un futuro seamos profesionales de calidad, brindando un mejor servicio a la sociedad.

A todos mis docentes por su vocación al bríndame sus conocimientos, enseñanzas, apoyo, consejos brindados, y amistades formadas durante el transcurso de mi formación profesional.

Finalmente, a las autoridades, personal médico, personal del Laboratorio Clínico y personal administrativo del Centro de Salud N°1 de la ciudad de Loja, por abrirme las puertas de dicha institución y brindarme todas las facilidades para una correcta realización de mi trabajo de integración curricular.

Deysi Marlene Chalan Montenegro

Índice

Portada	I
Certificación del Trabajo de Integración Curricular	II
Autoría del Trabajo de Integración Curricular.....	III
Carta de autorización del estudiante.....	IV
Dedicatoria.....	V
Agradecimientos.....	VI
Índice de contenidos.....	VII
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
2.1 Abstract.....	3
3. Introducción.....	4
4. Marco teórico.....	7
4.1 Infecciones de vías urinarias durante el embarazo.....	7
4.2 Factores Predisponentes	7
4.3 Epidemiología	7
4.4 Etiología	8
4.5 Patogenia	8
4.6 Clasificación de las infecciones de vías urinarias	9
4.6.1 Infección de vías urinarias bajas	9
4.6.2 Infección de vías urinarias altas	9
4.7 Bacteriuria asintomática durante el embarazo	10
4.8 Bacterias	10
4.8.1 Agentes Patógenos	10
4.8.1.1 Bacterias gram negativas.....	10

4.8.1.2	Bacterias gram positivas.....	13
4.9	Resistencia Bacteriana.....	16
4.9.1	Tipo de Resistencia	16
4.9.2	Mecanismos De Resistencia.....	17
4.10	Diagnóstico laboratorial	22
4.10.1	Obtención de muestras de orina	22
4.10.1.1	Transporte.....	22
4.10.2	Elemental y microscópico de orina (EMO).....	23
4.10.3	Tinción de Gram.....	23
4.10.4	Identificación bacteriana	24
4.10.4.1	Urocultivo.....	24
4.10.4.1.1	Métodos de cultivos	24
4.10.4.1.2	Siembra Microbiológica.....	26
4.10.4.1.3	Pruebas bioquímicas.....	27
4.10.4.1.3.1	Pruebas para la identificación de bacterias gram negativas	28
4.10.5	Antibiograma.....	31
4.10.6	Control de Calidad	39
4.10.6.1	Control de calidad de la muestra	40
4.10.6.2	Control de calidad de reactivos de identificación	40
4.10.6.3	Control de calidad en coloraciones	41
4.10.6.4	Control de medios de cultivo	41
4.10.6.5	Inspección de asas calibradas.....	42
4.10.6.6	Cepas de referencia ATCC (American Type Culture Collection)	42
5.	Metodología.....	44
5.1	Tipo de estudio	44

5.2	Área de estudio.....	44
5.3	Universo	44
5.4	Muestra.....	44
5.5	Criterios de Inclusión y Exclusión	44
5.5.1	Criterios de Inclusión	44
5.5.2	Criterios de Exclusión.....	45
5.6	Equipos y materiales	45
5.6.1	Fase preanalítica.....	45
5.6.2	Fase analítica.....	46
5.6.3	Fase postanalítica	46
5.7	Instrumentos de recolección de datos.....	47
5.8	Tabulación y análisis.....	47
5.9	Presentación de datos	47
5.10	Fuentes de información	47
5.11	Consideraciones éticas.....	48
6.	Resultados.....	49
7.	Discusión.....	54
8.	Conclusiones.....	58
9.	Recomendaciones.....	59
10.	Bibliografía	60
11.	Anexos.....	69

Índice de Tablas

Tabla 1 Frecuencia de infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022.....	49
Tabla 2 Frecuencia de agentes etiológicos identificados en urocultivos de las pacientes embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022	50
Tabla 3 Perfil de sensibilidad y resistencia de bacterias gram negativas a diferentes antibióticos mediante el antibiograma de las pacientes embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022.....	51
Tabla 4 Perfil de sensibilidad y resistencia de bacterias gram positivas a diferentes antibióticos mediante el antibiograma de las mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022.....	52
Tabla 5 Frecuencia de infección de vías urinarias en mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022 de acuerdo a la edad gestacional.....	53

Índice de Anexos

Anexo N° 1. Oficio de pertinencia del trabajo de investigación curricular.....	69
Anexo N°2. Oficio de aprobación y designación de director del trabajo de integración curricular.....	70
Anexo N° 3. Oficio de autorización para la toma de muestras.....	71
Anexo N° 4. Oficio de autorización del Decano de la Facultad de Salud Humana para el análisis de muestras en el Laboratorio de Microbiología Clínica y Parasitología.....	72
Anexo N° 5. Certificado de traducción.....	73
Anexo N° 6. Protocolo para el transporte de las muestras de orina	74
Anexo N° 7. Ficha de recolección de datos.....	76
Anexo N° 8. Protocolo para la realización del examen EMO	77
Anexo N° 9. Protocolo para la preparación de medios de cultivo.....	81
Anexo N° 10. Protocolo para la preparación de pruebas bioquímicas	85
Anexo N° 11. Protocolo para la siembra de muestras de orina	95
Anexo N° 12. Protocolo para la realización del antibiograma mediante la técnica de Kirby Bauer.....	98
Anexo N° 13. Protocolo para la detección fenotípica de betalactamasas.....	103
Anexo N° 14. Protocolo para la activación y conservación de cepas control ATCC.....	107
Anexo N° 15. Protocolo para el control de calidad de medios de cultivo, equipos, tinciones y antibióticos.....	110
Anexo N° 16. Formato de recolección de resultados del urocultivo	119
Anexo N° 17. Evidencias fotográficas del trabajo de campo.....	120

1. Título

Identificación de agentes etiológicos y antibiograma en urocultivos de embarazadas que acuden al Centro de Salud N° 1 de Loja

2. Resumen

Las infecciones de vías urinarias (IVU) son la infección bacteriana más común en el embarazo, lo que aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad materna y neonatal. Las infecciones del tracto urinario en este grupo vulnerable pueden presentarse como bacteriuria asintomática, cistitis aguda o pielonefritis, este trabajo de investigación tuvo como objetivo identificar los agentes etiológicos mediante cultivo, pruebas bioquímicas y realizar antibiograma en urocultivo de mujeres embarazadas que acuden al Centro de Salud N° 1, de la ciudad de Loja, en el periodo febrero – mayo 2022, el cual tuvo un enfoque cuantitativo y diseño transversal descriptivo. De las 198 muestras que cumplieron los criterios de inclusión se identificaron 28 muestras positivas de las cuales el agente bacteriano mayormente aislado fue *Escherichia coli* con un 67,86%, seguido por *Enterococcus faecalis* en 17,86%, microorganismos que presentaron resistencia a las aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina) con el 63,2%, para ciprofloxacina y gentamicina el 31,6%, para trimetoprim/sulfametoxazol el 42,1% y a la eritromicina con el 80% respectivamente. Además, existieron cepas con mecanismos de resistencia como la hiperproducción de betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) que corresponden a *Escherichia coli* y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *E. coli* y *K. pneumoniae* con un porcentaje del 7,14% que corresponden a 2 casos de patrón de resistencia. Así mismo se encontró que las mujeres embarazadas son más propensas a adquirir una infección de vías urinarias en el segundo trimestre con un porcentaje de 46,43%.

Palabras claves: Infección de vías urinarias, Enterobacterias, resistencias, antibióticos

2.1 Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are the most common bacterial infection in pregnancy, which increases the risk of maternal and neonatal morbidity and mortality. Urinary tract infections in this vulnerable group may present as asymptomatic bacteriuria, acute cystitis or pyelonephritis, this research work aimed to identify the etiological agents by culture, biochemical tests and antibiogram in urine culture of pregnant women who attend the Health Center No. 1, in the city of Loja, in the period February - May 2022, which had a quantitative approach and descriptive cross-sectional design. Of the 198 samples that met the inclusion criteria, 28 positive samples were identified, of which the bacterial agent most isolated was *Escherichia coli* with 67.86%, followed by *Enterococcus faecalis* in 17.86%, microorganisms that presented resistance to aminopenicillins (ampicillin and amoxicillin) with 63.2%, for ciprofloxacin and gentamicin 31.6%, for trimethoprim/sulfamethoxazole 42.1% and erythromycin with 80% respectively. In addition, there were strains with resistance mechanisms such as hyper-production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) corresponding to *Escherichia coli* and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in *E. coli* and *K. pneumoniae* with a percentage of 7.14% corresponding to 2 cases of resistance pattern. Likewise, it was found that pregnant women are more likely to acquire a urinary tract infection in the second trimester with a percentage of 46.43%.

Keywords: Urinary tract infection, *Enterobacteriaceae*, resistance, antibiotics

3. Introducción

La infección de vías urinarias (IVU) se define como la existencia de gérmenes capaces de producir alteraciones funcionales y morfológicas en la vejiga, sistema colectores o riñones; constituyéndose así una problemática de salud pública en nuestro país (Viquez et al., 2020, p. 3).

Por esta razón según Delgado (2019), las IVU representan la primera causa de consulta médica en mujeres en edad reproductiva y es la implicada en morbilidad perinatal. Durante el embarazo es la causa más frecuente de complicaciones perinatales serias y es la tercera causa de sepsis neonatal; las mujeres embarazadas son más propensas a las infecciones urinarias por causa hormonal, modificación del tono de la vejiga y disminuyen su capacidad de protegerse de los microorganismos.

Se ha descrito que la mayoría de las IVU en la etapa de gestación, son causadas por miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, principalmente *Escherichia coli* con el 80 a 90% de los casos; el 20% a 25% restante incluye microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus del grupo B*. Sin embargo, es posible detectar en menor medida *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Staphylococcus epidermidis* meticilinoresistente (Echevarría et al., 2018, p. 27).

Según la OMS, las infecciones de vías urinarias en el embarazo están representando cerca de una décima parte de las muertes maternas del mundo, siendo una de las problemáticas de salud más frecuentes en América. En EE UU, se diagnosticó alrededor de 7 millones de casos de IVU por año, mientras que la sociedad de obstetricia de Canadá, indican que las infecciones en gestantes ocurren de 45 a 60 % y estas tan solo 25% hacen recurrencia durante el embarazo, sin embargo, ocurren en cualquier momento de este, pero tienen una prevalencia mayor en el primer y tercer

trimestre (Cobas et al., 2021, p. 3), las mismas que están vinculadas con el uso indebido de antimicrobianos para condiciones o procedimientos maternos, minimizando los esfuerzos mundiales para evitar la aparición de cepas de microorganismos resistentes y en consecuencia afectar directamente la salud pública (OMS, 2016).

En nuestro país según datos estadísticos del Instituto Nacional de Estadística y Censos (2016) afirma que: “presentaron 12.951 casos de morbilidad por IVU en el embarazo, con una tasa de 16,01%”; a nivel local según Navas y Delgado (2017) en un estudio de la gestión estadística del Hospital Isidro Ayora se comprobó que la IVU en el embarazo están dentro de las diez primeras causas de morbilidad general correspondiente al 5.25% de pacientes con éste diagnóstico.

Para el desarrollo y cumplimiento de la presente investigación se planteó como objetivo general: Identificar los agentes etiológicos y realizar antibiograma en urocultivo de mujeres embarazadas que acuden al Centro de Salud N° 1, de la ciudad de Loja, en el periodo febrero – mayo 2022; y como específicos: Determinar la frecuencia de infecciones de vías urinarias en las embarazadas de la presente investigación; Identificar los agentes etiológicos presentes en los urocultivos de las pacientes embarazadas; Realizar el antibiograma correspondiente a los cultivos positivo y finalmente Establecer la edad gestacional que presenta mayor frecuencia de infección de vías urinarias.

Para lograr alcanzar los objetivos planteados se utilizó técnicas de uroanálisis la prueba del EMO elemental y microscópico, útil para evaluar características, determinar sustancias excretadas en la orina mediante reacciones químicas y enzimáticas, así mismo observar estructuras o células presentes en las muestras de orina, las mismas que indiquen IVU en las pacientes (Vicente de Mária y Campos, 2019, p.31); otra de las técnicas microbiológicas es el urocultivo, el cual permite la cuantificación del número de colonias presentes por mililitro y a su vez ayuda a la identificación

del tipo de bacteria causante de IVU Carroll et al. (2016, p. 35); y finalmente el antibiograma, utilizado para determinar qué antimicrobiano será capaz de inhibir el crecimiento de bacterias causantes de la infección (Cercenado y Saavedra, 2018, p. 214).

Con los antecedentes antes mencionados, se permite llegar a un diagnóstico correcto y oportuno que beneficia directamente a las pacientes e influye en una apropiada decisión terapéutica, disminuyendo así la frecuencia de estas infecciones en la etapa gestacional y por tanto reflejando en el control de la diseminación de resistencia bacteriana, ayudando a reducir el gasto y un problema de salud pública.

4. Marco teórico

4.1 Infecciones de vías urinarias durante el embarazo

La infección urinaria consiste en la colonización y multiplicación microbiana, habitualmente bacteriana, normalmente se produce en cualquier parte del aparato urinario, limitándose a la vejiga específicamente de una manera dolorosa y molesta, sin embargo, puede tener consecuencias graves si se extiende a los riñones; los síntomas y signos consisten en polaquiuria, disuria, hematuria, piuria y puede ocasionar septicemia (Delgado, 2019, p.2-3).

4.2 Factores Predisponentes

En el embarazo uno de los factores son la influencia hormonal y la acción de las prostaglandinas ya que disminuyen el tono de la musculatura uretral, vesical y en la perístasis de los uréteres, los cuales llevan a la estasis urinaria. Además, el aumento en la frecuencia de actividad sexual, es otro factor predisponente a infecciones del tracto urinario, puesto que durante la penetración se introducen bacterias al interior de la uretra, la vejiga y la mucosa de la uretra se traumatiza haciéndola susceptible a la infección (Rodríguez Barraza, 2019, p.143).

En las mujeres al poseer una menor longitud de la uretra, uso de material de ropa interior no apta a su cuerpo, infecciones de transmisión sexual, nivel socioeconómico bajo, antecedente de infecciones urinarias recurrentes, diabetes mellitus asociada al embarazo anomalías anatómicas y funcionales, edad de la gestación y medidas higiénico-dietéticas, son otros factores desencadenantes (Rodríguez Barraza, 2019, p.142-144).

4.3 Epidemiología

La IVU durante el embarazo presenta una incidencia del 8%, con lo que se convierte en una de las complicaciones infecciosas más frecuentes durante la gestación. El mayor riesgo comienza en la semana sexta de edad gestacional y tiene su pico más alto entre la semana 22 y 24; esto puede

ser de varios grados de gravedad, dependiendo de que parte del tracto urinario este afectando, siendo más grave cuando afecta los riñones (Zboromyrska et al., 2019, p.17).

Además según Guzmán y García (2020), indican que cerca del 70% de las mujeres presentan glucosuria y proteinuria durante el embarazo, factores que contribuyen al mayor riesgo de IVU en esta población, ya que las infecciones no tratadas se asocian con mayor mortalidad fetal, prematuridad y bajo peso.

Por otro lado, cerca del 2 al 7% de las embarazadas desarrollan bacteriuria asintomática, pero sin tratamiento antibiótico aproximadamente el 30% se conduce a cistitis y entre el 25 al 50% desarrolla pielonefritis, aumentando así el riesgo de un parto prematuro o un recién nacido de bajo peso, aumentando su prevalencia relativamente (Guzmán y García, 2020, p. 2-3).

4.4 Etiología

Más del 90% de las infecciones del tracto urinario son causadas por una sola especie bacteriana. *Escherichia coli*, es el microorganismo más frecuente en infecciones agudas; mientras que 10% restante se aíslan bacterias como *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter*, así como también *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus del grupo B*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, causante de infecciones en mujeres jóvenes. De la misma manera se pueden hallar agentes etiológicos presentes en la orina de pacientes con manifestaciones clínicas específicas; es el caso de la especie de *Cándida spp.* que se aíslan de mujeres con infecciones vaginales recurrentes (Arredondo et al., 2018, p.58-59).

4.5 Patogenia

Las infecciones se caracterizan por una serie de síntomas, como los siguientes: orinar frecuentemente, ardor o dolor, sensación de necesidad de orinar aun cuando se elimine una

cantidad pequeña o nula de orina, dolor en la parte baja del abdomen, dolor sobre el hueso púbico, fiebre leve; pero también pueden generarse otros síntomas más graves como fiebre elevada (>39 °C), escalofríos, dolor abdominal, orina sanguinolenta o turbia y dolor en la espalda, justo por encima de la cintura (Wiley y Sons, 2018, p. 252); (Viquez et al., 2020, p. 3).

4.6 Clasificación de las infecciones de vías urinarias

Se clasifican conforme al sitio de multiplicación de los microorganismos como:

4.6.1 Infección de vías urinarias bajas

4.6.1.1 Bacteriuria asintomática. Patología en la que las bacterias están presentes en la orina en un nivel significativo, caracterizada por la ausencia de síntomas en las pacientes que la padecen. La frecuencia varía del 2 al 11%, siendo *E. coli*, el microorganismo aislado con mayor frecuencia, aunque también se incluye *Ureaplasma* y *Gardnerella vaginalis* con el 25% (SNS, 2018, p. 34).

4.6.1.2 Cistitis. Consiste en la inflamación de la vejiga urinaria como consecuencia de una infección; manifestándose por sensaciones de ardor al momento de miccionar, ganas frecuentes de orinar, dolores en el bajo vientre, orinas turbias y con mal olor. Los gérmenes mayormente involucrados son *E. coli*, *S. saprophyticus*, *P. mirabilis*, *S. agalactiae* y especies de *Klebsiella spp*, dado que los uropatógenos proceden, frecuentemente, de la propia flora intestinal, lo manifiesta Delgado (2019, p. 6).

4.6.2 Infección de vías urinarias altas

4.6.2.1 Pielonefritis. Infección en el tracto urinario superior, proceso infeccioso que afecta a la pelvis y al parénquima renal, donde *E. coli* es la bacteria aislada mayormente, pero también se pueden encontrar *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp*, *M. tuberculosis* y *Candida spp.*, aproximadamente el 10 al 20% de los casos son

diagnosticados en el primer trimestre de embarazo y en su mayoría en el segundo y tercer trimestre de gestación lo indica (Oviedo, 2021, p. 752-753).

4.7 Bacteriuria asintomática durante el embarazo

Se define como la “colonización de la orina por un mismo germen en un número significativo de colonias en dos o más muestras y en ausencia total de síntomas urinarios y generales” manifiestan (Kalinderi et al., 2018, p. 2). Pero es más frecuente en la etapa gestacional, ya que las infecciones predominan en la clase de bajo nivel socioeconómico, debido a la falta de educación sexual y a la desinformación de los métodos de control prenatal.

Por eso el urocultivo es la prueba de elección adecuada y más práctica para el diagnóstico de bacteriuria asintomática (BA), el cual, se establece con el aislamiento de más de 100 000 UFC/ml de un solo microorganismo, siendo el primer cribado que se debe realizar junto con el resto de controles habituales en la semana 12 de gestación (Gil et al., 2018, p 7-8).

4.8 Bacterias

Son microorganismos unicelulares, procariotas, que se pueden encontrar prácticamente en cualquier ambiente, ya sea en los suelos, aguas, aire, y como parásitos, o patógenos del hombre, animales y plantas. Son los organismos más pequeños, con un tamaño entre 0,5 y 5 μm , poseen diversas formas como cocos redondos y bien definidos, en forma de bacilos (barras alargadas y de varios tamaños) y a su vez en forma de espirilos (hélices) (Barrero, 2016, p. 16).

4.8.1 Agentes Patógenos

4.8.1.1 Bacterias gram negativas

Escherichia coli. Bacilos gram negativos no espirulados de la familia Enterobacteriaceae móviles con flagelos o inmóviles, anaerobios facultativos, fermentadores, reductores de nitratos a

nitritos, oxidasa negativos, forman colonias circulares, convexas y lisas; produce pruebas con positividad al indol, lisina descarboxilasa, fermentadoras de manitol y producen gas a partir de la glucosa (Carroll et al., 2016, p. 232-233).

Klebsiella spp. Son bacilos inmóviles, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, está formada por una gran capsula de polisacáridos, diferenciándose de los demás géneros bacterianos pertenecientes a dicha familia; por ello forma colonias grandes y mucoides; generando pruebas positivas para lisina descarboxilasa y citrato. Presentan resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos, en infecciones nosocomiales, son oportunistas, ya que son causante de infecciones urinarias y bacteriemia, según (Murray, 2018, p. 262).

Pseudomonas spp. Son bacilos rectos o ligeramente curvados, oxidasa positiva, no fermentan lactosa, móviles por medio de flagelos polares, aeróbicos estrictos, aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. Tienen una amplia distribución y por tanto se encuentra en la naturaleza, en los fluidos y en los hospitales donde el ambiente sea húmedo, pudiendo causar la muerte al paciente; por ello es de mayor interés médico siendo aislada en un 20,4% de pacientes infectados (Carroll et al., 2016, p. 245-246).

Enterobacter spp. Bacilos móviles, fermentadores de lactosa, pueden contener cápsulas, produciendo así colonias mucoides; además suelen colonizar a los pacientes hospitalizados en particular a los tratados con antibióticos; la mayor parte de las cepas poseen una betalactamasa de tipo AmpC que las vuelven intrínsecamente resistentes a la ampicilina y a las cefalosporinas de primera y segunda generaciones (Murray, 2018, p. 263).

Serratia spp. Microorganismos oportunistas, móviles que fermentan la lactosa como no la fermentan y si lo hacen, lo realizan con lentitud, provoca el 2% de las IVU. Para tratar este tipo de

bacterias, el tratamiento antibiótico habitualmente es complicado por la alta frecuencia de resistencia a múltiples fármacos como aminoglucósidos y penicilinas, pero en su mayoría las infecciones se pueden tratar con cefalosporinas de tercera generación (Carroll et al., 2016).

Proteus spp. Es un microorganismo facultativamente anaeróbico, polimorfos, móviles, poseen una movilidad extrema que les ayuda a invadir los medios sólidos bajo forma de "enjambre", siendo patológicamente, el causante de infecciones sistémicas en huéspedes inmunocomprometidos. *Proteus mirabilis*, es el agente mayormente aislado de esta familia, es productor de ureasa que resulta en una hidrólisis rápida de la urea con liberación de amoníaco (Murray, 2018, p. 262-263).

Citrobacter spp. Grupo de bacilos gram negativos aerobios que se encuentra en el suelo, agua, comida y flora saprófita intestinal de animales y humanos; con una capacidad variable de fermentar lactosa; algunos utilizan citrato y otros no, muchas tienen antígenos somáticos O, flagelar H y de superficie K, lo que provoca reacciones cruzadas con otras Enterobacteriaceae. (Liu et al., 2018, p. 567-568).

C. koseri y *C. amalonaticus*, presenta resistencia de bajo nivel a aminopenicilinas y carboxipenicilinas, sensibilidad disminuida a ureidopenicilinas, manteniéndose sensibles a cefalosporinas, monobactámicos, carbapenémicos y a las asociaciones con inhibidores de betalactamasas; por otra parte *C. freundii* presenta una betalactamasa cromosómica inducible con actividad cefalosporinasa que le confiere resistencia a aminopenicilinas y cefalosporinas de primera generación, manteniendo la sensibilidad a carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, así como monobactámicos y carbapenémicos (Navarro et al., 2017, p. 642)

4.8.1.2 Bacterias gram positivas

Staphylococcus spp. Son células esféricas, no poseen cápsula, esporas, son inmóviles, dispuestas en racimos irregulares, pero también se pueden observar cocos solitarios, en pares o tétradas, fermentan lentamente carbohidratos, producen pigmentos que van de color blanco hasta amarillo intenso, son coagulasa negativa, a excepción de *S. aureus*; crecen con rapidez en casi todos los medios, como en medio de cultivo sólido son redondas, lisas, elevadas y brillantes. Producen catalasa, lo cual los distinguen de los estreptococos (Carroll et al., 2016, p. 203).

- *Staphylococcus aureus*, cocos gram positivos, dispuesto en racimos, coagulasa positiva, β hemolítico en agar sangre y en agar manitol fermenta manitol produciendo unas colonias de color dorado, forma parte de la flora normal del ser humano, en zonas como la piel, nasofaríngea, axilas y pliegues inguinales; sin embargo, es patógeno al generar infecciones en la piel y tejidos blandos, caracterizadas por ser supurativas y producir abscesos (Pasachova et al., 2019, p. 26-27).

- *Staphylococcus epidermidis*, coco gram positivo, se lo observa microscópicamente en agrupaciones en forma de racimos de uva, coagulasa negativa, enzima útil en la diferenciación con *S. aureus*. Crecen en agar sangre formando colonias lisas de color gris o blanco grisáceo y no producen hemólisis, es decir son gamma hemolíticos; en agar manitol producen colonias de color rojo, no provocando cambios en el color de indicador rojo fenol. Es una bacteria relativamente inocua, puesto que forma parte de la microbiota normal como lo es la piel y las mucosas; sin embargo, con el pasar del tiempo se ha convertido en un patógeno oportunista causando infecciones graves tanto en el ambiente hospitalario como en pacientes inmunodeprimidos (Ortega-Peña et al., 2019, p. 429); (Sánchez-Neira y Angarita-Merchán, 2018, p. 22).

- *Staphylococcus saprophyticus* bacteria gram positiva, inmóviles, catalasa positiva, coagulasa negativa, anaerobio facultativo, en medios de cultivo sus colonias son amarillas morfológicamente similares a *S. aureus* pero es no hemolítico, fermenta manitol, resistente a novobiocina, importante en la diferenciación de las demás especies de *Stafilococcus spp.* Microorganismo que habita en el tracto gastrointestinal y es causante de infecciones urinarias en pacientes jóvenes embarazadas o sexualmente activas (Ehlers y Merrill, 2021, p. 3); (Argemi et al., 2019, p. 2-3)

Streptococcus spp. Son microorganismo en forma esféricas (cocos) en pares o cadenas durante su multiplicación, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa negativo, la cual forma parte de la flora normal del aparato gastrointestinal, desde donde puede llegar a colonizar la vagina y el tracto urinario. Su clasificación de basa de acuerdo a la morfología de las colonias y reacciones hemolíticas en agar sangre; propiedades serológicas, antígenos de Lancefield y otros antígenos parietales o capsulares; reacciones bioquímicas (fisiológicas) y finalmente por las características ecológicas que algunos poseen (Carroll et al., 2016, p. 213)

- **Estreptococos alfa-hemolíticos**, producen una hemólisis parcial, donde las colonias quedan rodeadas por una zona de coloración verdosa; el principal agente es el *Streptococcus pneumoniae*, en agar sangre sus colonias son planas, con una elevación central y microscópicamente se observan en forma cocáceas gram positivas con aspecto de lanceta; además es resistente a bacitracina, sensible a optoquina, diferenciándose de otros estreptococos alfa-hemolíticos, como los *Streptococcus del grupo viridans* (Ruiz y Porres, 2018, p. 130)

- **Estreptococos beta-hemolíticos**, son aquellos que originan una hemolisis total (β) producida por la acción de hemolisinas de los eritrocitos, provocando un halo transparente

alrededor de las colonias. Dentro de ellos, los estreptococos se agrupan mediante la clasificación de Lancefield (A a U), por lo tanto, los grupos de mayor importancia clínica son:

- **Grupo A**, *Streptococcus pyogenes* pertenece a este grupo; bacteria gram positiva, normalmente anaerobia facultativa, inmóvil, catalasa negativa, bacitracina sensible, PYR positiva, de forma esférica y con un diámetro inferior a 2 μm ; se suele agrupar formando cadenas de dos o más bacterias, siendo exigente desde el punto de vista nutricional, por lo que se cultiva en medios de agar sangre, en los que crece formando colonias blancas o grises, rodeadas de una zona de hemólisis completa (β) producida por la acción de hemolisinas, como la proteína M, estructura filamentosa anclada en la membrana celular, es quien le confiere la virulencia; también elabora dos hemolisinas; estreptolisina O y S, producen las zonas hemolíticas alrededor de las colonias (Carroll et al., 2016, p. 215-217)

- **Grupo B**, dentro de este grupo encontramos a *Streptococcus agalactiae*, producen cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas largas en cultivos, distinguiéndose así de *S. pyogenes*; forma colonias grandes con zonas de hemólisis β estrechas; reacciona dando positividad para hipurato de sodio y para la prueba de CAMP; se encuentra formando parte de la microflora vaginal normal y del tubo digestivo y puede afectar al recién nacido causándole sepsis neonatal, entre el 10 al 30% son portadoras vaginales durante el embarazo (Carroll et al., 2016, p. 220)

- **Estreptococos no hemolíticos**, no producen hemólisis, es decir son gamma hemolíticos. En este grupo no hay especies patógenas, salvo algunas especies oportunistas como lo son *S. mutans* o *S. sanguis* (Ruiz y Porres, 2018, p. 131)

Enterococos spp. Cocos grampositivos dispuestos en parejas o cadenas cortas; en agar sangre sus colonias son grandes, no hemolíticas, aunque a veces son α hemolíticas o en menor medida β hemolíticas, PYR positivos, de tal modo en presencia de bilis, hidrolizan la esculina resultando bilis y esculina positivas. Han sido identificados como 47 especies de enterococos pero *Enterococcus faecalis* es el más frecuente y causa aproximadamente del 85 a 90% de las infecciones, en tanto que *Enterococcus faecium* produce 5 a 10%, son hallados en el interior del tracto gastrointestinal, aparato genitourinario y en la saliva (Murray 2018, p. 199-201).

4.9 Resistencia Bacteriana

Según la Organización Mundial de la Salud (2020), afirma que la resistencia bacteriana, es la resistencia de algún medicamento antimicrobiano que al principio era vulnerable, porque algunos organismos pueden resistir ataques de antimicrobianos provocando que tratamientos convencionales contra los microorganismos se vuelven ineficaces y las infecciones se hacen persistentes. Por ello la OMS, hace un llamado a nivel mundial en la utilización de nuevos antibacterianos, recalca que si no se cambia la forma en que se utilizan actualmente los antibióticos, esos nuevos medicamentos tendrán el mismo destino que los actuales y se volverán ineficaces con el tiempo.

4.9.1 Tipo de Resistencia

4.9.1.1 Resistencia Natural o Intrínseca. Es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano, además no tiene correlación clínica con la dosis del antibiótico, por ejemplo para *K. pneumoniae*, por su producción natural de betalactamasas es resistente a penicilinas, especialmente a ampicilina y amoxicilina; así también sucede con los bacilos gram positivos, que son resistentes a la clindamicina puesto que no poseen con un sitio blanco para este antibiótico (Forbes et al., 2009, p. 180)

4.9.1.2 Resistencia Adquirida. Es variable, característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico pero que ha sido modificada genéticamente ya sea por mutación o al adquirir genes de resistencia como plásmidos, transposones e integrones, que les permiten a las células replicarse con mayor facilidad. Además, se manifiesta desde dos puntos de vista, uno bioquímico, con la producción de enzimas de un sitio diana tanto intracelular como extracelular y disminución de la permeabilidad de la membrana celular. O genéticamente mediante la resistencia temporal o permanente, dependiendo del ambiente en el que crezca el microorganismo (Forbes et al., 2009, p. 180)

4.9.2 Mecanismos De Resistencia

Según Bisso (2018) indica que la resistencia bacteriana tanto natural como adquirida se acelera por el uso irracional de agentes antimicrobianos y son abordadas desde el punto de vista tanto molecular, bioquímico y genético; puesto que implican múltiples alteraciones en el sin número de genes y fenotipos bacterianos

4.9.2.1 Inactivación del antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química. Proceso molecular caracterizado por la producción de enzimas que cumplen con esta función, ya que son las encargadas de destruir la estructura química del antibiótico, tales como, las betalactamasas que hidrolizan el núcleo β -lactámico rompiendo el enlace amida, la enzima eritromicina esterasa, catalizadora de la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico y otras enzimas como acetilasas, adenilasas y fosfatasas, son quienes modifican a las estreptograminas, aminoglucósidos y lincosamidas (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 189).

4.9.2.2 Alteración del sitio blanco del antibiótico. Consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como lo es, la pared, membrana celular, subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras. Tal es el caso de la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV, ofrecen resistencia bacteriana a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* y *E. coli* frente a las quinolonas (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 189).

Así como la metilación del RNA ribosomal de la subunidad 50S, es quien le permite la resistencia a *S. aureus* y *S. epidermidis* frente a tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos; mientras que las mutaciones de la subunidad 30S, le confiere resistencia contra gentamicina, tobramicina y amikacina (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 189).

4.9.2.3 Alteración en las barreras de permeabilidad. Se produce por las modificaciones que se generan en los receptores específicos para los antimicrobianos o por alteraciones estructurales en la pared o membrana celular, ya que son las que influyen en la permeabilidad, como en la pérdida de la capacidad de transporte activo o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el momento en que el antibiótico se introduce a la célula bacteriana (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 189).

El alto contenido de lípidos en la membrana celular externa de las gram negativas aproximadamente el 40% de lipopolisacárido, les proporciona una barrera propia contra la entrada de antibióticos. Las porinas se hallan en la membrana interna celular, sirven como canales, ya que están llenos de agua por lo que la penetración

de los antibióticos, dependerá del tamaño de la molécula, carga eléctrica de la misma e hidrofobicidad del medio (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 189).

4.9.2.4 Bombas de eflujo. Se encuentran ubicadas en la membrana celular, llevan a cabo la internalización y expulsión de los antimicrobianos; el eflujo activo del antibiótico es mediado por proteínas transmembranales; por ello, en bacterias gram negativas se toma cuenta componentes de la membrana externa y citoplasma, para la formación de canales y de esa manera expulsar el agente antimicrobiano hacia el exterior de la célula tan rápido como entra (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2017, p. 190).

4.9.2.5 Perdida de porinas. Canales infiltrados en la membrana externa de las bacterias gram negativas que trabajan como filtros y actúan de manera eficaz, retardando el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Cuando se pierde o se daña una porina por infinidad de causas, pero más por mutaciones; hace que aumenten las CIM para el antibiótico (Tafur et al., 2018, p. 229).

Pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar, por ejemplo, en *P. aeruginosa*, los carbapenémicos utilizan una porina específica llamada OprD, ésta se cierra, generando resistencia antimicrobiana.

4.9.2.6 Mecanismos de Resistencia de *Enterobacteriaceae*

Presentan multirresistencia a diferentes antibióticos; característicamente la resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos está determinada por mecanismos enzimáticos que facilitan la degradación de estos antibióticos.

4.9.2.6.1 *Betalactamasas.*

Las bacterias gram negativas generan resistencia a los antibióticos betalactámicos sintetizando enzimas que degradan el anillo betalactámico y actúan como mecanismos de resistencia natural, por lo que el antibiótico pierde su capacidad para adherirse a las proteínas de unión de la penicilina y actúa como bactericida (Tafur et al., 2018, p. 225).

4.9.2.6.1.1 Clasificación

Se clasifican de acuerdo a los sustratos sobre los que actúan, las sustancias capaces de inhibirlas y la gran semejanza en sus secuencias de aminoácidos; por lo que ha generado la creación de varias clasificaciones, como la que elaboró Sawai y colaboradores, luego Richmond y Sykes, hasta la más actual creada por Ambler, que reconoció 4 tipos moleculares A, B, C y D; donde los tipos A, C, D poseen serina en su zona activa, las del grupo B poseen una o más moléculas de zinc; pero la clasificación más utilizada actualmente es la elaborada por Bush, Medeiros y Jacoby, fundamentada en los sustratos que las enzimas hidrolizan y en la contención de su actividad por el ácido clavulánico, EDTA, aztreonam u oxacilina; es por ello que la clasificación de Bush y Jacoby como la de Ambler están correlacionadas lo indica Astocondor (2018, p. 43).

A continuación, se describen las betalactamasas más importantes clínicamente:

4.9.2.6.1.1.1 Betalactamasas de espectro ampliado (BLEA): Tras la introducción de la ampicilina, se describió una β -lactamasa que hidrolizaba esta aminopenicilina y se denominó β -lactamasa TEM-1, posteriormente se halló la TEM-2 y por último, en aislados de *Klebsiella pneumoniae* se encontró SHV-1. Así, TEM-1, TEM-2 y SHV-1 son las BLEA más comúnmente distribuidas en bacilos gram negativos Córdova (2017, p. 4)

4.9.2.6.1.1.2 Betalactamasas de espectro extendido (BLEE): Grupo de enzimas que confieren resistencia a las oximinocefalosporinas, aztreonam, cotrimoxazol, aminoglucósidos, quinolonas y penicilinas. No tienen resistencia a cefoxitina ni carbapenémicos siendo inhibidas por el ácido clavulánico Astocondor (2018, p. 43-46).

4.9.2.6.1.1.3 Betalactamasas de tipo AmpC: Enzimas con serinas en el sitio activo y funcionan principalmente como cefalosporinasas, la primera enzima reportada con capacidad de hidrolizar la penicilina, fue una betalactamasa tipo AmpC descubierta en *Escherichia coli* Astocondor (2018, p. 44).

Algunas bacterias gram negativas poseen resistencia de manera natural ya que tienen betalactamasas tipo AmpC, como *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia mercences*, *citrobacter freundii* y *Hafnia alvei* Córdova (2017, p. 14-15)

4.9.2.6.1.1.4 Carbapenemasas: Permiten la degradación de todos los compuestos betalactámicos, incluyendo carbapenémicos Cercenado (2017, p. 8-9). Podemos diferenciar varios tipos las del Grupo A; Grupo B (Metalobeta-lactamasas), contienen un ión o iones de Zn^{+2} en lugar de serina, esencial para el ataque nucleofílico del anillo β -lactámico y finalmente las del Grupo D o tipo OXA, estas a su vez se subdividen en grupos; OXA-23, OXA-245, OXA-48, OXA-58, OXA-72 y OXA-143, siendo de mayor importancia clínica el OXA-48, por hidrolizar a imipenem unas 10 veces más y son encontradas en cepas de *Acinetobacter spp.* (Gastelo et al., 2018, p. 186).

4.10 Diagnóstico laboratorial

4.10.1 Obtención de muestras de orina

Se debe hacer en un recipiente estéril de boca ancha, con cierre hermético, especialmente de primera muestra de la mañana, ya que los recuentos bacterianos son más elevados en orinas que ha permanecido en la vejiga durante la noche, es decir, muestra más concentrada (Ochoa et al., 2017, p. 443), señalan los siguientes pasos:

- Lávese las manos.
- Se debe realizar un aseo de zona vaginal y genital con abundante agua limpia y luego se seque muy bien.
- Posterior a ello, con ayuda del dedo pulgar y el dedo medio, va a separar los labios mayores y menores, dejando fija la mano en esa posición hasta que finalice la recolección de la muestra.
- A continuación, va orinar evitando que el chorro de orina toque las zonas adyacentes de la región genital y de esa manera, recolectara el chorro medio de la primera orina de la mañana.
- Enviar la orina antes de que pase una hora al Laboratorio para su posterior análisis.

4.10.1.1 Transporte

Las muestras de orina se deben procesarse antes de dos horas después de su obtención. Si no se puede hacer lo antes mencionado, las muestras deben permanecer refrigeradas a una temperatura de 2 a 8° C. Se lo puede hacer durante 24 a 48 horas como límite, sin que se modifique el recuento bacteriano (Mérida y Moreno, 2015, p. 35).

4.10.2 Elemental y microscópico de orina (EMO)

Es un examen físico y químico el cual comprende un componente macroscópico para determinar diversos parámetros como el color, aspecto, olor y espuma de las muestras, así mismo comprende el análisis químico, el cual se realiza mediante reacciones enzimáticas impregnadas en una tirilla que posee zonas reactivas; entre ellas nitritos, leucocitos, glucosa, proteínas, leucocitos, sangre, bilirrubinas, urobilinógeno, pH y la densidad (Arispe et al., 2019, p. 94-95).

Otro componente del EMO es el análisis microscópico del sedimento de orina, aquí se busca principalmente la presencia de células, leucocitos, bacterias, cilindros, cristales entre otras estructuras que se hallen presentes en el análisis; este examen nos permite evaluar las infecciones del tracto urinario, luego de realizar un examen microscópico de orina y obtener resultados como nitritos positivo, bacterias (+++) se considera como altamente sospechoso y se procede a realizar la identificación bacteriana mediante el urocultivo (Vicente de Mária y Campos, 2019, p. 28).

4.10.3 Tinción de Gram

Se utiliza dos tipos de colorantes, que permite la visualización y diferenciación de dos grandes grupos de bacterias, gram positivas y gram negativas. Fundamentalmente se basa en las características de la pared celular de las bacterias, puesto que la pared de las bacterias gram negativas está constituida por una capa fina de péptidoglicano y una membrana externa, mientras que en las gram positivas posee una pared celular gruesa constituida por péptidoglicano y no cuentan con membrana celular externa (Carroll et al., 2016, p. 23-28)

La tinción de Gram utiliza como colorante primario cristal violeta, mismo que tiene afinidad por el péptidoglicano de la pared bacteriana; el lugol actúa como fijador, evitando la salida del cristal violeta, conformando un complejo cristal violeta-lugol; el alcohol acetona, deshidrata la pared y cierra los poros de la misma, las bacterias gram positivas al tener mayor cantidad de

péptidoglicano conservan el complejo, mientras que en las gram negativas no conservan; la safranina funciona como colorante secundario, la cual proporciona la tinción de las bacterias que no pudieron retener el complejo violeta-yodo (Rodríguez y Arenas, 2018, p. 166).

4.10.4 Identificación bacteriana

4.10.4.1 Urocultivo

Continúa siendo el patrón de referencia para el diagnóstico de la infección del tracto urinario; por lo tanto, demostrar la presencia de una cantidad significativa de bacterias identifica definitivamente esta afección (López y Campuzano, 2020, p. 220)

4.10.4.1.1 Métodos de cultivos

La elección del medio de cultivo debe contemplar la opción que permita el crecimiento y nos permita la identificación correcta del agente a investigar, por ello algunas guías para el cultivo de enterobacterias en orina proponen el uso de agar MacConkey, agar sangre y agar Eosina azul de metileno (E.M.B), donde las bacterias se multiplican durante al menos 18-24 horas para poder visualizar e identificar correctamente y continuar con las pruebas bioquímicas, lo detalla Lopardo (2016, p. 11-12).

Agar MacConkey. Medio selectivo y diferencial utilizado para la recuperación de enterobacterias y bacilos gram negativos entéricos, por contener sales biliares y cristal violeta que inhiben el desarrollo de bacterias gram positivas y de algunas gram negativas exigentes; además contienen lactosa y rojo neutro como indicador de pH, donde las bacterias fermentadoras de lactosa forman colonias de diferentes tonos de rojo, ya que provocan la precipitación de las sales biliares por la gran cantidad de ácidos formados, lo que se observa fácilmente en el medio por la aparición de zonas opacas alrededor de las colonias, mientras que las bacterias que no fermentadoras forman colonias incoloras o transparentes Barrero (2016, p. 44).

Agar E.M.B (Eosina Azul De Metileno). Medio diferencial y selectivo para aislar y detectar enterobacterias en muestras mixtas. Los colorantes de anilina (eosina y azul de metileno) inhiben el desarrollo de bacterias gram positivas y negativas exigentes, pero también se combinan precipitando a pH ácido, actuando como indicadores de producción de ácidos. El medio incluye lactosa, lo que permite la diferenciación de los fermentadores de lactosa de los no fermentadores, por lo que los fermentadores fuertes de lactosa, sobre todo *Escherichia coli*, producen colonias de color negro verdoso con brillo metálico, mientras que los productores más débiles de ácidos, forman colonias de color violeta y los no fermentadores forman colonias transparentes (González et al., 2017, p. 29)

Agar Sangre. Medio de aislamiento especialmente diseñado para facilitar el crecimiento de microorganismos exigentes y gran parte de bacterias grampositivas, también es utilizado para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos, por lo que se considera un medio diferencial, ya que ciertas bacterias producen enzimas extracelulares que actúan sobre los glóbulos rojos y de esa manera se determina el tipo de hemólisis que poseen: alfa, beta o gamma; siendo así la hemólisis de tipo alfa una hemólisis incompleta, caracterizada por la destrucción parcial de la membrana de los eritrocitos y pérdida de algo de hemoglobina en el agar, evidenciándose una coloración verdosa alrededor de la colonia; la beta-hemólisis se caracteriza por la destrucción total de los eritrocitos dando lugar a un halo transparente, pero cuando los microorganismos no producen ningún tipo de hemólisis se dice que son gamma-hemolíticos Barrero (2016, p. 43).

Agar Mueller-Hinton. Medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad y resistencia bacteriana; recomendado por el Comité de la Organización Mundial de la Salud sobre estandarización de pruebas de susceptibilidad de los microorganismos frente a los antimicrobianos, por no llevar incorporados inhibidores de los antimicrobianos, como, por ejemplo,

el PABA (ácido p-amino benzoico), que anula la actividad de sulfamidas y antibióticos (González et al., 2017, p. 21).

Asimismo, hay medios de cultivos para bacterias grampositivas, tales como:

Manitol Salado. Medio selectivo utilizado en la identificación y aislamiento de estafilococos y diferenciación entre la especie coagulasa positivas de las coagulasa negativas, ya que los estafilococos coagulasa positivos son capaces de utilizar el manitol, para su crecimiento virando el pH del medio a un color amarillo, mientras que los coagulasa negativos no varían el pH permaneciendo el medio de color rojo (Ruiz y Porres, 2018, p. 56)

Bilis Esculina. Se trata de un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de enterococos, puesto que la bilis inhibe el crecimiento de otras bacterias grampositivas. Por lo tanto, se basa en la capacidad que poseen los estreptococos del grupo D de crecer en un medio de cultivo que contiene un 40% de bilis y de hidrolizar la esculina a esculetina, la cual se combina con el citrato ferroso que contiene el medio, dando un complejo de color negro o marrón oscuro (Ruiz y Porres, 2018, p. 56).

Agar Mueller Hinton suplementado con el 5% de sangre de carnero. Es un medio útil para realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco para microorganismos fastidiosos y que necesitan sangre para su crecimiento, como es el caso de neumococos y otros estreptococos (Troncoso 2017, p. 1-2).

4.10.4.1.2 Siembra Microbiológica

Según (Zboromyrska et al., 2019, p. 29), la siembra de orina se realiza de manera cuantitativa y para ello se usan asas calibradas de 1 µL o de 10 µL.

Normalmente se utiliza la técnica de sembrado método de Kass; misma que consiste en procesar en zigzag la superficie del medio con el asa previamente cargada con la muestra de orina a analizar. También sembrado por agotamiento, donde se realiza una descarga inicial, luego extender el inóculo en ángulos rectos respecto a la estría primaria, se gira la placa a 90° y el inóculo se extiende hasta cubrir toda la superficie (Zboromyrska et al., 2019, p. 29-30)

4.10.4.1.3 Pruebas bioquímicas

Son basadas en reacciones enzimáticas cromogénicas que nos ayudan para hacer una identificación bacteriana definitiva, ya que, permiten determinar las características metabólicas de las bacterias, pudiendo así clasificar en gram negativas o positivas. Por tal razón las principales pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de grampositivas son:

Catalasa. Es una enzima que se halla en algunas células de tejidos humanos, su función principal es la descomposición del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en oxígeno y agua, que ocurre durante el metabolismo celular oxidativo. Comúnmente es utilizada para diferenciar estreptococos (catalasa -) de estafilococos (catalasa +) (Forbes et al., 2009, p. 221)



Prueba de la Coagulasa. La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida, con actividad semejante a la protrombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coagulo visible. En el laboratorio, es utilizada más a menudo para diferenciar al *S. aureus* (coagulasa +) de otros estafilococos y micrococos (Zendejas et al., 2017, p. 136).

Prueba de la susceptibilidad a la Novobiocina. Según (Seija, 2019, p . 3), indica que se utiliza para diferenciar entre los *Staphylococcus coagulasa negativo*, que pueden dividirse en especies sensibles y resistentes a la novobiocina. Entre las especies resistentes se cuenta al *S. saprophyticus*.

Prueba de Bacitracina. Sirve para dar un diagnóstico presuntivo en la identificación de Streptococcus beta hemolítico del grupo A, ya que, a diferencia de la mayoría de los estreptococos, suelen ser sensibles Barrero (2016, p. 104).

Prueba de Optoquina. Se usa el disco de optoquina para diferenciar entre *S. pneumoniae* (sensibles) y otras especies de estreptococos a hemolíticos (resistentes) (CDC y OMS, 2019, p. 184-186).

Prueba de Bilis esculina. Los *Enterococcus spp.* tienen la capacidad de hidrolizar la esculina en presencia de la bilis, se requiere que el medio tenga el 4% de sales biliares, así se formará glucosa y un residuo de esculetina el mismo que reacciona con iones férricos lo que ocasiona el ennegrecimiento del medio (Ruiz y Porres, 2018, p. 56).

4.10.4.1.3.1 Pruebas para la identificación de bacterias gram negativas

Prueba del citocromo oxidasa. Esta técnica utiliza reactivos, como el dehidrocloruro de p-fenilendiamina, que sustituye al oxígeno como aceptador artificial de electrones. En estado reducido, el colorante es incoloro, sin embargo, en presencia de citocromooxidasa y de oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina se oxida y forma azul de indofenol (Lopardo et al., 2016, p. 41)

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como último eslabón de la cadena de respiración aerobia, por ello se encuentra en microorganismos aerobios o microaerófilos y anaerobios facultativos, de modo que la prueba oxidasa es importante para identificar a los microorganismos que carecen de la enzima o son aerobios obligados. La prueba tiene su mayor

utilidad para diferenciar colonias sospechosas de pertenecer a alguna de las enterobacteriaceae y para identificar las sospechosas de pertenecer a otros géneros como *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Campylobacter* y *Pasteurella* (Martínez, 2021, p. 36).

Prueba de Citrato. La utilización de citrato y sales inorgánicas de amonio como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de Enterobacterias. El pH alcalino hace que el indicador de pH en el medio, el azul de bromotimol vire de su color verde original a un azul intenso, lo cual corresponde a un citrato positivo (Martínez, 2021, p. 27).

Prueba de Sulfuro Indol Movilidad (SIM). Algunas bacterias heterotróficas son capaces de liberar azufre enzimáticamente de los aminoácidos que lo contengan, produciendo ácido sulfhídrico. Las bacterias tienen la capacidad de degradar triptófano dando Indol, ácido pirúvico, y amoníaco, gracias a la enzima triptofanasa hidrolizan el aminoácido. Entonces la presencia de Indol se detecta observando la formación de una coloración rosa – roja en el medio al añadir el reactivo de Kovacs, observando si hay la formación de un anillo rojo. Mientras que la movilidad es una característica importante al hacer una determinación bacteriana pues indirectamente señala que el microorganismo posee flagelos (Seija, 2019, p. 4).

Prueba del Azucar Triple Hierro (TSI). Ayuda a determinar la capacidad de la bacteria de utilizar la lactosa, glucosa y sacarosa, con producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico. Son medios utilizados preferentemente para la identificación de enterobacterias. Por lo tanto, ante la interacción de las bacterias con los azúcares presentes en el medio, se puede evidenciar una coloración amarilla, misma que es acida A (fermentación de glucosa) y una coloración roja alcalina (no fermentación de lactosa), entonces:

- **A/A.** Se produce cuando la bacteria fermenta lactosa, los ácidos producidos modificarán el pH de la superficie del medio. Las aminos son incapaces de neutralizar la cantidad de ácidos elaborados en esta fermentación. El color de la superficie del medio cambiará a amarillo (Delgado y Álzate, 2020, p. 4).
- **K/A.** El medio se mantiene su color rojo en la superficie por no haber modificado el pH. Las bacterias que crecen en la profundidad emplearán desde el primer momento la glucosa por vía fermentativa, produciendo ácidos que no serán neutralizados, incitando un descenso del pH y cambiará el color del medio a amarillo en el fondo del tubo.
- **K/K.** Se produce cuando la bacteria es aerobia estricta es decir no fermentadora, el medio se mantiene de color rojo. Los azúcares son respirados, degradándose totalmente hasta CO₂ y no modifica el pH (Delgado y Álzate, 2020, p. 4).
- **A/A (g).** Es la aparición de rotura, burbujas o elevación del agar del fondo del tubo.
- **K/A (H₂S).** Aparece un precipitado de color negro en el fondo del tubo. Esto se produce ya que algunas bacterias respiradoras anoxobiónicas son capaces de usar el tiosulfato de sodio como receptor final de electrones en la cadena transportadora. El compuesto se reduce a ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro Fe²⁺ presente en el medio formando un precipitado negro de sulfuro de hierro (Delgado y Álzate, 2020, p. 4).

Prueba de la Ureasa. Basada en la capacidad que tienen las bacterias para hidrolizar la urea y descomponerla en 2 moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa. Por lo tanto, las bacterias que hidrolizan el medio va a producir un color rojo –rosado, y las bacterias que no hidrolizan el medio se va a presentar de un color amarillo (Forbes et al., 2009, p. 246)

Prueba de la Lisina. Determina la capacidad de algunas bacterias para descarboxilar o desaminar la lisina, ayuda a la identificación de *Salmonella*, si la prueba es positiva la bacteria

posee la enzima lisina descarboxilasa que forma cadaverina la cual alcaliniza el medio, también contiene hierro dando la formación de sulfuro de hidrógeno. Al alcalinizar el medio, podemos observar un fondo amarillo que indica que no se produce lisina descarboxilasa y un color morado que, si es producida, siendo positiva la prueba para Enterobacterias (Forbes et al., 2009, p. 232)

4.10.5 Antibiograma

Mide la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección bacteriana, esto ayuda a la eficacia de un tratamiento antibiótico, así mismo para seguir la evolución de las resistencias bacterianas (Cercenado y Saavedra, 2018, p. 214).

4.10.5.1 Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica

La determinación de la sensibilidad hacia los diversos antibióticos, no involucra solo la realización de procedimientos microbiológicos y medir los resultados emitidos, por ello es necesario saber interpretar correctamente cada uno de ellos y darles el significado que realmente tienen, por lo tanto, los métodos se pueden clasificar en:

Métodos Cuantitativos: Permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), definida como la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo (Hernández et al., 2018, p. 606).

Métodos Cualitativos: Según (Ruiz y Porres, 2018) señala, que son menos precisos que los cuantitativos y los resultados generalmente se informan en una de las siguientes formas:

- **Sensible (S):** Cuando un microorganismo aislado es inhibido por las concentraciones alcanzadas por el agente antimicrobiano, entonces la dosis recomendada es usada para el sitio de la infección, resultando en una probable eficacia clínica.

- **Intermedio (I):** Significa que el crecimiento del microorganismo está inhibido solamente a la dosis máxima recomendada que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- **Resistente (R):** Cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico (p. 168).

4.10.5.2 Antibiograma por el método Kirby-Bauer o de Difusión en Disco

Fundamento. Consiste en depositar en la superficie de una placa de agar Muller-Hinton previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico se difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración; al transcurrir 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano, la lectura se realiza a través de la medición de los halos y cada combinación de microorganismo-antibiótico tiene diámetros diferentes que implican que es S, I o R (Taroco et al., 2017. p. 665).

Discos de antibióticos. Mantenerse en el refrigerador a una T° de 4 °C, para mantener la actividad del antibiótico y deben ser sacados una o dos horas antes de su uso, fijándonos siempre en la fecha de vencimiento antes de usarlos. El deterioro de los discos ocurre si son sometidos a humedad o a frecuentes fluctuaciones de temperatura (Rodríguez et al., 2017, p. 379)

Patrón de turbidez. Se usa una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez que corresponde a un 0,5 del nefelómetro de Mc Farland, luego de preparado se distribuye en tubos de ensayo, estos deben ser guardados a temperatura ambiente y protegidos de la luz (Rodríguez et al., 2017, p. 379)

Medio de cultivo. Placas de agar de Muller-Hinton, es el más apropiado para las pruebas de sensibilidad dado que muestran buena reproducibilidad, contienen bajo nivel de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclinas (Arendrup et al., 2020, p. 1465).

4.10.5.3 Clasificación de los antibióticos

4.10.5.3.1 Antibióticos betalactámicos

Constituyen la familia más numerosa de agentes antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica, ya que su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, interfiriendo en la síntesis del peptidoglicano mediante un bloqueo en la última etapa de su producción, pero también actúa activando la autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano (Carroll et al., 2016, p. 363-365).

Penicilinas

Comparten un núcleo químico común en ácido 6-aminopenicilánico, el cual contiene un anillo betalactámico principal para el desarrollo de su actividad biológica, por lo tanto, se pueden dividir según:

- a) Penicilinas naturales - Penicilina G, es la mayor representante del grupo, puesto que sostiene su sensibilidad frente a *S. pyogenes*, *T. pallidum* y *C. perfringens*; poseen una vida media muy corta requiriendo la administración cada 4 horas vía intravenosa (Papadakis et al., 2021, p. 405)
- b) Penicilinas semisintética, son aquellas que actúan como bactericidas en bacterias gram positivas, así como negativas; algunas especies bacterianas son sensibles a la ampicilina como es el caso del meningococo y la *Listeria*, mientras que

las cepas de neumococo, *S. del grupo viridans* y *H. influenzae* no productor de betalactamasas son resistentes (Papadakis et al., 2021, p. 405)

c) Penicilinas combinadas con inhibidores de betalactamasas, el ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam, poseen una gran efectividad contra las bacterias productoras de betalactamasas; sulbactam, sulfona del ácido penicilánico, posee actividad frente a *A. baumannii*, al sumarse con ampicilina esta actividad incrementa enormemente; tazobactam, al juntarse a piperacilina es muy efectiva contra *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *P. vulgaris*, *C. diversus*, *P. aeruginosa* (Papadakis et al., 2021, p. 406)

d) Penicilinas antiestafilocócicas, la oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina y nafcilina son resistentes a la degradación de las betalactamasas que son producidas por *S. aureus*, productor de betalactamasas de penicilinas (Papadakis et al., 2021, p. 406)

4.10.5.3.2 Glicopéptidos

Son aquellos que inhiben la síntesis de la pared celular, actúan sobre bacterias grampositivas incluyendo cepas *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), en este grupo tenemos a teicoplanina y vancomicina, esta última utilizada con mayor frecuencia, posee un mecanismo de acción diferente a los otros antibióticos betalactámicos, puesto que no se une a las PBP sino a los precursores de la síntesis de la pared celular interfiriendo que dichas enzimas se incorporen a los precursores de la pared celular en crecimiento, por lo que si se detiene el crecimiento, la célula muere (Lopardo y Suárez, 2020, p. 50)

4.10.5.3.3 Macrólidos – lincosamidas y estreptograminas (MLS)

Forman parte de este grupo la eritromicina, azitromicina, claritromicina y la clindamicina (una lincosamida), inhiben la síntesis de las proteínas en las bacterias al unirse a los receptores presentes

en la subunidad 50S del ribosoma interfiriendo en el desarrollo de las cadenas peptídicas (Brenner y Stevens, 2019, p. 450)

4.10.5.3.4 Oxazolidonas

Representadas por el linezolid, siendo el primer fármaco distribuido a nivel comercial, por su alta acción frente a bacterias grampositivas causantes de infecciones graves, ya que poseen un mecanismo de acción peculiar de inhibición de la síntesis proteínica, interfiriendo en la formación de N-formilmetionil-tRNA (Carroll et al., 2016, p. 367).

4.10.5.3.5 Cefalosporinas

Son agentes bactericidas que poseen actividad frente a bacterias Gram positivas y negativas, actuando en la inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana de igual forma que las penicilinas; se clasifican en generaciones dependiendo del tipo del microorganismo que destruyen:

- Primera generación, son activas contra cocos Gram positivos (excepto enterococos y MRSA), también muestran una actividad modera contra algunos bacilos gram negativos como *E. coli*, *Potreus spp.*, *Klebsiella spp.*, comprende cefalotina, cefapirina, cefradina, cefazolina, cefadroxilo, cefalexina
- Segunda generación, útil contra bacterias gram negativas como *Potreus spp.*, *Klebsiella spp.*, pero no *P. aeruginosa*. Cefuroxima, cefoxitin, cefotetán, cefprozilo, cefmetazol, cefunícida, cefamandol, pertenecen a este grupo.
- Tercera generación, activas contra enterobacterias productoras de betalactamasas, tiene una actividad reducida contra cocos gram positivos y los enterococos son resistentes naturales. Pertenecen a este grupo cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefoperazona, ceftibutén, cefdinir

- Cuarta generación, el cefepime posee una actividad enorme contra especies de *Entobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, mismos que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación (Carroll et al., 2016, p. 383-384).

4.10.5.3.6 Carbapenémicos

Antimicrobianos betalactámicos de más amplio espectro, actividad y resistencia a las betalactamasas, incluidas las BLEA, BLEE y AmpC. Imipenem, meropenem, ertapenem y doripenem forman parte de este grupo, este último es más activo contra *P. aeruginosa*; pero cabe recalcar que ningún carbapenémico es útil contra *S. maltophilia* (Gómez et al., 2017, p. 6)

4.10.5.3.7 Fosfomicina

Antibiótico bactericida, que penetra el interior de la célula bacteriana por medio de sistemas de transporte del D-glucosa-6-fosfato y por el sistema del L-a-glicerofosfato; pero algunos microorganismos son capaces de resistir la acción de la fosfomicina a través de la alteración del sistema de transporte, alteración del sitio de acción y la ruptura enzimática, siendo útil sobre diversas bacterias gram positivas y negativas (Lopardo, 2020, p. 55-59)

4.10.5.3.8 Nitrofurantoínas

Es utilizada para tratar infecciones urinarias no complicadas, puesto que es activa contra la mayoría de las bacterias gram positivas y negativas (excepto *Potreus spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudonomas spp.*). En el embarazo el uso de nitrofurantoína es controvertido, ya que suele comunicarse que no se conocen efectos teratogénicos en el ser humano, pero disminuye la actividad de la glutatión reductasa, causando anemia hemolítica en el recién nacido cuando la madre haya consumido el antibiótico poco antes del parto, también se sugiere que no se utilice durante el primer trimestre del embarazo (Lopardo, 2020, p. 158-162)

4.10.5.3.9 Aminoglucósidos

Según (Carroll et al., 2016) son “fármacos que comparten diversas características químicas, antimicrobianas farmacológicas y tóxicas” (p. 390). Son aquellos que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas y provocan alteraciones graves del metabolismo celular como gentamicina, amikacina, tobramicina, sisomicina, estreptomycin, neomicina, canamicina, actuando sobre varios microorganismos gram positivos y negativos. Es importante conocer que las concentraciones plasmáticas de gentamicina son mínimas en las mujeres embarazadas debido a su mayor eliminación renal, pero en concentraciones mayores puede ocasionar daño fetal como sordera total, bilateral e irreversible en los neonatos (Lopardo, 2020, p. 93-103).

4.10.5.3.10 Monobactámicos

Son resistentes a las betalactamasas por poseer un anillo betalactámico monocíclico; aquí encontramos el aztreonam, mismo que no tiene actividad frente a cocos gram positivos ni anaerobios, siendo exclusivamente activo contra bacterias gram negativas aerobias, incluidas la familia *Enterobacteriaceae* (Gómez et al., 2017, p. 6)

4.10.5.3.11 Quinolonas – fluroquinolonas

Conformado por antibióticos como ciprofloxacina, ofloxacina, ácido nalidíxico, cinoxacina, levofloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, gemifloxacina, son activas en la inhibición de la síntesis de DNA bacteriano al bloquear la DNA girasa y la topoisomerasa IV; también son muy activos contra *Enterobacteriaceae* incluidas aquellas que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, especies de *Haemophilus*, neisserias, clamidias y otras; además su actividad contra gram positivos es variable, ya que algunas actúan sobre *S. pneumoniae*, estafilococos

susceptibles a meticilina y *E. faecalis*, no es recomendable el uso en la gestación por el riesgo de producir artropatías en la madre y niños (Arés et al., 2017, p. 83-85)

4.10.5.3.12 Sulfonamidas y trimetoprim

Las sulfonamidas son estructuralmente similares al PABA (ácido para-amino-benzoico) y en base a ello compiten con él por la enzima dihidropteroato sintetasa que interviene en el metabolismo del ácido fólico. Además son bacteriostáticas para algunas bacterias gram negativas y negativas con excepción de *P. aeruginosa*; no es recomendable el uso durante el tercer trimestre de embarazo por el riesgo de hiperbilirrubinemia en el neonato y sobre todo si son prematuros; mientras que el trimetoprim a más de actuar en la vía del ácido fólico, también inhibe una enzima diferente como lo es dihidrofolato reductasa, por ello la asociación de ambos antibióticos refuerzan el efecto antibacteriano y evitan la aparición de resistencias bacterianas. Sin embargo, no es aconsejable su administración en el primer trimestre de gestación, puesto que genera el aumento de malformaciones congénitas (Brenner y Stevens, 2019, p. 460-462)

4.10.5.4 Detección fenotípica de BLEA

Microorganismos que expresa una betalactamasa de tipo BLEA presentaran resistencia a amoxicilina, ampicilina, carbenicilina y ticarcilina; mientras que la resistencia a cefalosporinas de primera generación, piperacilina y a antibióticos β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas solamente se observa cuando este tipo de enzimas se hiperproducen Córdova (2017, p. 5-10)

4.10.5.5 Detección fenotípica de BLEE

Mediante la técnica de difusión con disco, incubando la cepa en presencia de C3G y C4G, al lado de amoxicilina/ácido clavulánico y aztreonam (Marrero-Moreno et al., 2017, p. 5)

4.10.5.6 Detección fenotípica de AmpC

Las AmpC hidrolizan C1G, C2G y en menor medida C3G, por lo que los métodos fenotípicos para la detección es el de aproximación de disco entre un disco de cefoxitina a una distancia de 27 mm centro a centro de un disco de ceftazidima y ceftriaxone, los resultados son positivos cuando se observa un achatamiento del halo de inhibición en forma de D; y el método de discos combinados con inhibidores, utilizando cefotaxima y ceftazidima a una distancia de 20 a 25 mm centro a centro de un disco con cloxacilina o ácido fenil-borónico, observando un sinergismo o presencia de zona fantasma entre las cefalosporinas y el inhibidor, dando como resultado positivo (Centeno et al., 2018, p. 582).

4.10.5.7 Detección fenotípica de Carbapenemas

Las metalo-betalactamasas constituyen el grupo de mayor importancia de las carbapenemasas, por que poseen un perfil hidrolítico a todos los betalactámicos con la excepción del aztreonam y es inhibida por quelantes de zinc, por ello se utiliza un disco de meropenem en el centro, a continuación, se coloca los discos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y ácido fenilborónico a cada lado en una distancia de 10 a 20 mm. Córdova (2017, p. 43-45)

4.10.6 Control de Calidad

Es por ello según (García et al., 2017, p. 6); (Carey et al., 2018, p. 3-4) el laboratorio de microbiología, debe llevar procesos estrictamente normalizados y estandarizados en la elaboración de pruebas cuyo objetivo principal es la tipificación del agente causal; monitoreando de forma permanente, los instrumentos, equipos, medios de cultivo, reactivos, coloraciones y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana garantizando un resultado 100% confiable.

4.10.6.1 Control de calidad de la muestra

Para emitir un resultado completamente confiable, va depender mucho de la calidad de la muestra recibida, puesto que una muestra mal recolectada, con un procesamiento erróneo y más un no transportada correctamente, genera complicaciones en la determinación de los microorganismos, diagnósticos erróneos e incluso un tratamiento no adecuado. Por eso para asegurar el aislamiento del patógeno, existen normas básicas para la recolección correcta de las muestras, siendo lo mayormente representativas, en cantidad suficiente, sin que se contaminen con tejidos, secreciones adyacentes o microbiota normal (Sáinz et al., 2020, p. 6-7).

4.10.6.2 Control de calidad de reactivos de identificación

Todos los reactivos deben ser controlados con periodicidad, por ello, se recomienda su control diario, con las cepas de bacterias adecuadas, y seguir estrictamente las indicaciones en cuanto al almacenamiento, la metodología de uso y el tiempo de lectura.

Control de calidad de los reactivos usados en el laboratorio de microbiología y reacciones esperadas

Reactivo	Cepa control	Reacciones esperadas
Kovac (Indol)	<i>Escherichia coli</i>	Positiva: anillo fucsia o rojo
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Negativa: anillo amarillo
Coagulasa	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positiva: formación de coágulo
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativa: no formación de coágulo
Catalasa	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positiva: formación inmediata y sostenida de burbujas
	<i>Streptococcus spp.</i>	Negativa: no formación de burbujas
Oxidasa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Positiva: color rosado o púrpura
	<i>Escherichia coli</i>	Negativa: no cambio de color
Rojo de metilo	<i>Escherichia coli</i>	Positiva: anillo color rojo
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Negativa: anillo anaranjado
Pyr	<i>Escherichia coli</i>	Positiva: anillo color rojo
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Negativa: anillo anaranjado
Voges-Proskauer	<i>Escherichia coli</i>	Positiva: color rojo o fucsia
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Negativa: incoloro

Nota: Tomado y modificado de Procedimiento control de calidad interno analitos cualitativos del área de bacteriología (p. 29-30) y Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas color por W.C. Winn y colaboradores, 2008, Editorial Médica Panamericana.

4.10.6.3 Control de calidad en coloraciones

La tinción mayormente utilizada es la tinción de Gram, útil para la identificación de bacterias, levaduras y otros elementos patológicos, por ello que se debe controlar diariamente la solubilidad de los colorares, que no existan precipitados o la formación de grumos por causa de la humedad u otra condición ambiental que generen el deterioro de las tinciones; así mismo comprobar si no existe contaminación bacteriana y de serlo así, es aconsejable la filtración de los tintes (Morales et al., 2017, p. 464-465).

4.10.6.4 Control de medios de cultivo

Es importante realizar pruebas de control de calidad en los medios para comprobar si cumplen con sus especificaciones y si la metodología empleada para su preparación es satisfactoria; verificando que no se hayan contaminado antes de su uso, comprobar su apariencia, aspecto, dureza, profundidad del agar, pH y si cumplen con todas las características mínimas para el crecimiento de microorganismos suspendidos en ellos.

Normalmente el control de calidad interno que se realiza es la inoculación de microorganismos que poseen un control verificado por instituciones reconocidas a nivel nacional, que tengan un comportamiento conocido, tanto para reacciones negativas como para positivas, como lo son las cepas bacterianas ATCC (Morales et al., 2017, p. 467).

Control de calidad de medios de cultivo mayormente utilizados y sus reacciones observadas

Medios de cultivo	Organismos control	Reacciones esperadas
Agar chocolate	<i>Haemophilus influenzae</i>	Crecimiento
Agar sangre	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Crecimiento
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Hemólisis alfa
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Hemólisis beta
	<i>Enterococcus spp</i>	No produce hemólisis
Agar MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	Colonias rosadas
	<i>Enterococcus faecalis</i>	No crecimiento
Agar manitol salado	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias amarillas

	<i>Escherichia coli</i>	No crecimiento
Citrato Simmons	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Color azul oscuro del medio
	<i>Escherichia coli</i>	No crece/cultivo color verde
Fenilalanina	<i>Proteus spp.</i>	Aparición inmediata de color verde intenso
desaminasa	<i>Escherichia coli</i>	No cambio de color
Agar SS	<i>Escherichia coli</i>	Colonias rosadas
	<i>Salmonella spp</i>	Colonias incoloras con H ₂ S

Nota: Tomado y modificado de “Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología” por M.L. Herrera y M. Campos, 2015, Rev Méd Hosp Nac Niños, 40, p. 12 y Recomendaciones sobre el aseguramiento de la calidad de medios de cultivo y reactivos (p. 31-34) por C. Miranda y colaboradores. En: Recomendaciones generales para el control de calidad interno en Microbiología Clínica, 2016, Madrid, España: SEIMC

4.10.6.5 Inspección de asas calibradas

Se debe inspeccionar las asas calibradas que no son descartables periódicamente para corroborar que siguen en buen estado, redondas y estén libres de abolladuras, dobleces, corrosión o material incinerado (Zboromyrska et al., 2019, p. 48-49)

4.10.6.6 Cepas de referencia ATCC (American Type Culture Collection)

Las cepas ATCC básicas recomendadas por el CLSI para el método de difusión son *Escherichia coli* ATCC 25922, recomendada solo para control de combinaciones de las betalactamasas, como el ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, para el control en los métodos de tamizaje en oxacilina-sal-agar; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, control de las pruebas de BLEE y *Enterococcus faecalis* ATCC 29121, útil para supervisar que no haya concentraciones inadmisibles de timidina en el agar de Mueller-Hinton cuando se prueban la trimetoprima o las sulfonamidas (Morales et al., 2017, p. 467-469)

Límites del diámetro de los halos del control de calidad

Según el (CLSI, 2020) los límites aceptables del diámetro de los halos del control de calidad para una prueba sencilla de control de calidad figuran en la siguiente tabla:

Rangos de control de calidad por difusión en disco para agentes antimicrobianos de organismos no fastidiosos, excluyendo los agentes combinados β -lactámicos

Antimicrobiano	Contenido del disco	Rangos de control de calidad por difusión en disco (mm)	
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Amikacina	30 μ g	19-26	20-26
Ampicilina	10 μ g	15-22	27-35
Aztreonam	30 μ g	28-36	-
Cefazolina	30 μ g	21-27	29-35
Cefepime	30 μ g	31-37	23-29
Cefotaxime	30 μ g	29-35	25-31
Cefoxitin	30 μ g	23-29	23-29
Ceftazidime	30 μ g	25-32	16-20
Ceftriaxone	30 μ g	29-35	22-28
Cefuroxime	30 μ g	20-26	27-35
Ciprofloxacina	5 μ g	29-38	22-30
Clindamicina	2 μ g	-	24-30
Ertapenem	10 μ g	29-36	24-31
Eritromicina	15 μ g	-	22-30
Fosfomicina	200 μ g	22-30	25-33
Gentamicina	10 μ g	19-26	19-27
Imipenem	10 μ g	26-32	-
Levofloxacina	5 μ g	29-37	25-30
Linezolid	30 μ g	-	25-32
Meropenem	10 μ g	28-35	29-37
Nitrofurantoína	300 μ g	20-25	18-22
Oxacilina	1 μ g	-	18-24
Penicilina	10 μ g	-	26-37
Trimetropim/sulfametoxazol	1.25/23.73 μ g	23-29	24-32
Vancomicina	30 μ g	-	-
Amoxicilina- ác. Clavulánico	20/10 μ g	18-24	28-36
Piperacilina-tazobactam	100/10 μ g	24-30	27-36

Nota: Elaborado en base a las tablas 4A-1 y 4A-2 del M100 Clinical and Laboratory

Standards Institute (CLSI) del año 2022, p. 156-158

5. Metodología

5.1 Tipo de estudio

La presente investigación fue de diseño cuantitativo, de corte transversal y tipo descriptivo, mediante el cual cuantifiqué la frecuencia de infección de vías urinarias, agentes etiológicos y la resistencia y susceptibilidad antimicrobiana de cada microorganismo aislados de las muestras de urocultivo de las mujeres embarazadas que acuden al Centro de Salud N° 1, de la ciudad de Loja.

5.2 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Loja, con las muestras recolectadas de orina en el Laboratorio del Centro de Salud N° 1, que se encuentra ubicado en la Avenida Universitaria y José Flores Rodríguez, frente a la puerta de la Ciudad, perteneciente a la parroquia el Sagrario.

5.3 Universo

Estuvo conformado por todas las pacientes embarazadas que acudieron al Laboratorio del Centro de Salud N° 1, durante el periodo Febrero – Mayo 2022.

5.4 Muestra

Estuvo representada por el número de muestras positivas para el urocultivo de las mujeres embarazadas que acudieron al Centro de Salud, periodo Febrero – Mayo 2022.

5.5 Criterios de Inclusión y Exclusión

5.5.1 Criterios de Inclusión

- Embarazadas que asisten al laboratorio clínico del Centro de Salud N° 1, con la solicitud de uroanálisis, durante el periodo Febrero a Mayo del 2022.
- Cultivos primarios con crecimiento $\geq 60\ 000$ UFC/ml o $\geq 100\ 000$ UFC/ml.

- Muestras que cumplan con los criterios recomendados para los procedimientos microbiológicos.

5.5.2 Criterios de Exclusión

- Embarazadas que asisten al laboratorio clínico del Centro de Salud N° 1, con la solicitud de exámenes sanguíneos u otro tipo de análisis, durante el periodo Febrero a Mayo del 2022.
- Mujeres embarazadas que ya hayan sido muestreadas durante esta investigación, es decir, no debe haber dos muestras de una misma paciente, puesto que genera sesgo de muestreo.
- Muestras contaminadas con secreción vaginal u otros fluidos biológicos.

5.6 Equipos y materiales

El procesamiento de las muestras se organizará de la siguiente manera:

5.6.1 Fase preanalítica

5.6.1.1 Oficio dirigido a la Dra. Sandra Freire, Directora de la Carrera de Laboratorio Clínico pidiéndole la aprobación y designación de director del trabajo de titulación (ANEXO N° 1).

5.6.1.2 Solicitud dirigida a la Dra. Paulina Quizhpe, encargada del Centro de salud N°1, requiriendo me permita el ingreso al Laboratorio Clínico del Centro, para la recolección de las muestras y datos en general de las pacientes embarazadas (ANEXO N° 2).

5.6.1.3 Oficio dirigido al Decano de la Facultad de Salud Humana, pidiéndole que se facilite la utilización del Laboratorio de Microbiología Clínica y Parasitología, durante el proceso de análisis de las muestras (ANEXO N° 3).

5.6.1.4 Protocolo para el transporte de las muestras de orina del Centro de Salud N°1 al laboratorio de Microbiología clínica y Parasitología de la Facultad de Salud Humana (ANEXO N° 4).

5.6.1.5 Formato de registro de recolección de datos (ANEXO N° 5).

5.6.2 Fase analítica

5.6.2.1 EMO elemental y microscópico (ANEXO N° 6).

5.6.2.2 Preparación de medios de cultivo: agar sangre, MacConkey, E.M.B y Mueller Hinton (ANEXO N° 7).

5.6.2.3 Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana (ANEXO N° 8).

5.6.2.4 Siembra de muestras en los medios de cultivos para diferenciar las cepas bacterianas (ANEXO N° 9).

5.6.2.5 Determinación de resistencia y susceptibilidad a través del antibiograma mediante la técnica de Kirby Bauer (ANEXO N° 10).

5.6.2.6 Detección fenotípica de β -lactamasas (ANEXO N° 11).

5.6.2.7 Activación y conservación de cepas control ATCC (ANEXO N° 12).

5.6.2.8 Control de calidad de medios de cultivo, equipos, tinciones, antibióticos y de cepas control ATCC (ANEXO N° 13).

5.6.3 Fase postanalítica

5.6.3.1 Instrumento de recolección de resultados del urocultivo (ANEXO N° 14).

5.6.3.2 Evidencias fotográficas del trabajo de campo (ANEXO N° 15).

5.7 Instrumentos de recolección de datos

Con toda la información obtenida de las pacientes, procedí a llenar los formatos de recolección de datos, tales como; formato para EMO, consta de código único del pacientes, nombres y apellidos, número de cédula, edad, examen fisicoquímico y el examen microscópico; por otra parte, hoja de registro diario de los urocultivos, misma que consta de datos personales, pruebas bioquímicas tanto para gram positivas como para gram negativas, la identificación bacteriana con su # de colonias (UFC), y los diversos antibióticos utilizados en el antibiograma, evaluados e ingresados como sensible, intermedio y resistente.

5.8 Tabulación y análisis

Para la tabulación de información de la presente investigación, fue mediante la utilización del programa estadístico denominado IBM SPSS, realizando un análisis estadístico descriptivo; los cuales se presentaron de acuerdo a los objetivos planteados, aportando de mejor manera con datos epidemiológicos reales y actuales de nuestra localidad.

5.9 Presentación de datos

Una vez obtenidos los resultados se presentaron en forma organizada mediante el uso de tablas y gráficas, que representan e interpretan los datos obtenidos en base a la frecuencia de las muestras en presentar estructuras o células que indiquen infección de vías urinarias, el trimestre de embarazo que se encontraba la paciente, el agente aislado y su resistencia y sensibilidad antimicrobiana.

5.10 Fuentes de información

Como fuentes de información primaria, la base de datos que cuenta el Centro de Salud para el agendamiento diario de los pacientes, números telefónicos de los médicos tratantes por parte del personal de Laboratorio del Centro e información dada por las pacientes embarazadas que acuden a dicha institución.

5.11 Consideraciones éticas

Se codificó en la base de datos los nombres de las pacientes, de modo que la información de sus nombres sea solo conocida por el investigador, siempre y cuando guardando la confidencialidad, compromiso primario en dicho estudio de mantener en total privacidad la identidad de las personas que formaron parte del estudio.

6. Resultados

Se obtuvieron 220 muestras de orina, mismas que fueron procesadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Salud Humana en el periodo febrero – mayo del 2022, de las cuales 198 cumplieron con los criterios de inclusión, con los siguientes resultados:

La frecuencia de infecciones de vías urinarias en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud N°1 (tabla 1), se observa que las muestras negativas presentan mayor frecuencia según el examen elemental y microscópico de orina.

Tabla 1 Frecuencia de infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022

IVU*	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa
Positivas	28	14,14%
Negativas	170	85,86%
Total	198	100%

Nota: Elaboración propia a partir de los registros de muestras de orina procesadas en la Facultad de Salud Humana *IVU: Infección de vías urinarias.

En la tabla 2, se muestran los agentes etiológicos aislados en las muestras positivas del urocultivo de las mujeres embarazadas, siendo *Escherichia coli* el microorganismo más frecuente seguido de *Enterococcus faecalis*.

Tabla 2 Frecuencia de agentes etiológicos identificados en urocultivos de las pacientes embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022

Agente Etiológico/*MRB	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa
<i>Escherichia coli</i>	18	64,29%
<i>Escherichia coli</i> BLEE+	1	3,57%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	10,71%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLEE+	1	3,57%
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	17,86%
Total	28	100%

Nota: Elaboración propia a partir de los registros de urocultivos procesados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Salud Humana
*MRB: Mecanismo de resistencia bacteriana

En la tabla 3, se indica perfil de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia para las bacterias gram negativas aisladas en urocultivos de las pacientes embarazadas, donde *E. coli* presenta resistencia a aminopenicilinas, fluoroquinolonas, nitrofurantoinas, aminoglucósidos y al trimetoprim/sulfametoxazol, siendo al resto de antibióticos sensibles.

Tabla 3 Perfil de sensibilidad y resistencia de bacterias gram negativas a diferentes antibióticos mediante el antibiograma de las pacientes embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022

Antibióticos/ Bacterias gram negativas	<i>Escherichia coli</i> (N=19)			<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N=4)		
	S%	SI%	R%	S%	SI%	R%
Ampicilina	36,8	-	63,2	-	-	RN
Cefazolina	84,2	5,3	10,5	50	-	50
Cefoxitina	89,4	5,3	5,3	75	-	25
Cefuroxima	63,2	26,3	10,5	50	25	25
Ceftazidima	89,4	5,3	5,3	75	-	25
Ceftriaxone	94,7	-	5,3	75	-	25
Cefepime	94,7	-	5,3	75	-	25
Amoxicilina/ ác.clavulánico	52,6	42,1	5,3	50	50	-
Aztreonam	89,5	-	10,5	75	-	25
Imipenem	100	-	-	100	-	-
Fosfomicina	89,5	-	10,5	50	25	25
Ciprofloxacina	63,1	5,3	31,6	50	25	25
Nitrofurantoína	73,7	-	26,3	25	25	50
Gentamicina	68,4	-	31,6	75	-	25
Trimetoprim/ sulfametoxazol	57,9	-	42,1	50	-	50

Nota: S (Sensible), SI (Sensibilidad Intermedia), R (Resistente), RN (Resistente Natural); Elaboración propia a partir de los resultados del antibiograma realizados en los microorganismos gram negativos aislados en el periodo Febrero - Mayo 2022

En la tabla 4, se presenta el perfil de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia para bacterias gram positivas, encontrándose de la siguiente manera:

Tabla 4 Perfil de sensibilidad y resistencia de bacterias gram positivas a diferentes antibióticos mediante el antibiograma de las mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022

Antibióticos/ Bacterias gram positivas	<i>Enterococcus faecalis</i> (N=5)		
	S%	SI%	R%
Penicilina	100	-	-
Ampicilina	100	-	-
Vancomicina	100	-	-
Eritromicina	20	-	80
Clindamicina	-	-	-
Linezolid	100	-	-
Cefoxitina	-	-	-
Ceftriaxone	-	-	-
Cefepime	-	-	-
Imipenem	100	-	-
Fosfomicina	40	-	60
Ciprofloxacina	60	20	20
Levofloxacina	-	-	-
Nitrofurantoína	80	20	-
Gentamicina	-	-	-
Trimetoprim/ sulfametoxazol	-	-	-

Nota: S (Sensible), SI (Sensibilidad Intermedia), R (Resistente); Elaboración propia a partir de los resultados del antibiograma realizados en los microorganismos gram positivos aislados en el periodo Febrero - Mayo 2022

En la tabla 5, se representa la frecuencia de los urocultivos positivos según la edad gestacional, evidenciándose que el segundo trimestre es el de mayor frecuencia, siendo el periodo donde más contraen infecciones de vías urinarias las mujeres embarazadas, seguido del tercer trimestre y último el primer trimestre, cabe mencionar que el periodo de embarazo no está relacionado con las infecciones de vías urinarias ($X^2=1,25$; $p=0.53$) estadísticamente en nuestra población $p>0.05$

Tabla 5 *Frecuencia de infección de vías urinarias en mujeres embarazadas que acuden al laboratorio clínico del Centro de Salud N°1 de Loja en el periodo Febrero a Mayo del 2022 de acuerdo a la edad gestacional*

Periodo Gestacional	Número de casos				Total
	Positivos	%	Negativos	%	
Primer Trimestre	5	17,86%	36	21,18%	41
Segundo Trimestre	13	46,43%	72	42,35%	85
Tercer Trimestre	10	35,71%	62	36,47%	72
Total	28	100%	170	100%	198

Nota: Elaboración propia a partir de la información dada de las mujeres embarazadas que acuden al Laboratorio Clínico del Centro de Salud N°1 en el periodo Febrero - Mayo 2022

7. Discusión

La infección de vías urinarias es una de las afecciones más frecuentes de infección bacteriana en el ser humano, puesto que es conocida como la multiplicación o presencia de microorganismos en el tracto urinario; generando alteraciones tanto funcionales como morfológicas. Dichos cambios se intensifican durante el embarazo, causando una alta morbi-mortalidad tanto fetal como materna.

En ocasiones las IVU se complican por producto de un diagnóstico desafortunado, de ahí la necesidad de identificar correctamente el agente etiológico involucrado en cada uno de los casos de infección; aspecto que coadyuva a una terapéutica más efectiva y sobre todo a tiempo para dichas pacientes (Milá-Pascua et al., 2020, p. 1)

En el presente estudio se evidenció una frecuencia del 14,14% (N=28) de IVU que está dentro de los rangos reportado por Torres et al. (2020), Quirós y Apolaya (2018) donde mencionan que la prevalencia de las infecciones urinarias van desde 7 a un 21,7%; este rango de diferencia se explica porque no consideraron pacientes con bacteriuria asintomática, por otro lado Sanín et al. (2019), Jaramillo et al. (2021), Saquipay et al. (2021) nos indican un porcentaje que fluctúa desde el 29, 41,4 y 52,5% respectivamente, este rango es mayor al expuesto a nuestro trabajo, dicho incremento se puede atribuir que en sus estudios incluyeron pacientes con sospecha de IVU, y se tomaron muestras de 24 a 36 meses respectivamente, lo que puede evidenciar que el sistema de prevención de salud de nuestro país es de mejor calidad.

Entre los microorganismos causales más frecuentes que conllevan a las infecciones de vías urinarias en las gestantes fueron *Escherichia coli* en 67,86%, *Enterococcus faecalis* en 17,86%, *Klebsiella pneumoniae* en 14,28%, los mismos que coinciden en los estudios realizados por Sanín et al. (2019), Gomez y Herrera (2018), donde *E. coli* fue el uropatógeno más frecuentemente

aislado en un 57,7 y 71,4% de los casos, seguida por *Enterococcus faecalis* en un 10,8% y en menor proporción aislaron otras enterobacterias como *C. koseri*, *K. pneumoniae*. Una de las razones porque las *Enterobacterias* se aíslan con mayor frecuencia, es por los factores de colonización que posee como los pili o fimbrias, que le permite una mayor adherencia y rápida invasión de las vías urinarias; además *Klebsiella*, *Proteus* y *Enterobacter*, aunque comparten características con *E. coli* y se clasifican en la familia *Enterobacteriaceae*, no necesariamente poseen factores de virulencia que faciliten el ascenso por el tracto urinario (Carroll et al., 2016). No obstante, se ha señalado que *Proteus mirabilis* se encuentra dotado de factores de virulencia, como adhesinas, que facilitan la colonización del tracto urinario (Díaz et al., 2017) pero también existen cambios anatómicos en las mujeres, como la cercanía de la vulva con el ano, que facilitan la entrada de las bacterias a la uretra, según Mariscal-García et al. (2019) está es una de las causas de padecer infección, puesto que la mayoría de mujeres con una escolaridad baja, no tienen el conocimiento apropiado en la manera adecuada de realizarse la higiene genital, también el bajo nivel socioeconómico, nivel demográfico y antecedentes de infección de vías urinarias recurrentes son algunos otros factores predominantes de la proliferación bacteriana en el periodo de embarazo.

En lo que se refiere a sensibilidad y resistencia a los antibióticos que generan las bacterias aisladas con mayor frecuencia, *E. coli* expresó una resistencia del 63,2% a la ampicilina, el 31,6% para ciprofloxacina y gentamicina, el 42,1% al trimetoprim/sulfametoxazol, además posee una sensibilidad para nitrofurantoínas, fosfomicinas, a las cefalosporinas de primera generación (cefazolina), de segunda (cefotixin), de tercera (ceftriaxone, ceftazidime) y de cuarta (cefepime), semejante al estudio realizado en el Hospital de Alta Complejidad de Medellín, Colombia por Sanín et al. (2019), encontrando una resistencia del 31% trimetoprim/sulfametoxazol, el 25% ampicilina/sulbactam, el 21% ciprofloxacina, 7% gentamicina y ampicilina, a diferencia de nuestro

estudio cefazolina representa un 15% de resistencia para dicha bacteria al igual que posee un 6% de resistencia a nitrofurantoína; por otro lado *E. faecalis* mostro tasas de resistencia para eritromicina en 80% y fosfomicina con 60%, mostrando sensibilidad a la ampicilina, penicilina, linezolid e imipenem al 100%, siendo similar a lo expuesto por Gomez y Herrera (2018), donde mostro la sensibilidad del 98,9% a la ampicilina, el 100% a la nitrofurantoína y ampicilina/sulbactam respectivamente. El incremento de las resistencias de nuestro estudio en comparación a las investigaciones citadas se debe a que existe una diferencia de 3 a 4 años respectivamente, lo que demuestra el aumentando del uso indiscriminado de antibióticos generando un problema local y mundial y a su vez una crisis de salud pública, ya que en la actualidad estamos generando la aparición de gérmenes con altas tasas de resistencia antimicrobiana, donde cada vez es más difícil y complejo de controlar dichos casos (Bisso, 2018); (González et al., 2019).

Cabe recalcar que en nuestro estudio se encontró cepas con un hiperproducción de betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) que corresponden a *Escherichia coli* siendo resistentes a aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina), fluoroquinolonas, amoniglucósidos y a inhibidores del folato; de la misma manera se evidencio cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *E. coli* y *K. pneumoniae* con un porcentaje del 7,14% (N=2), en comparación a otros estudios el porcentaje varía significativamente, según Quirós y Apolaya (2018) encontró una prevalencia del 11, 8% en 13 cepas de *Escherichia coli* BLEE y del 1,82% encontradas en dos cepas de *Klebsiella pneumoniae* BLEE; estas cepas presenta mayor resistencia a ampicilina, ceftazidima, cefuroxima, ceftriaxone, aztreonam con el 100%; de igual modo en el estudio Acuña et al. (2019), Alviz et al. (2018) se evidenció un 3,6 al 17,92% de *E. coli* productora de BLEE correspondientemente, datos que en la actualidad llaman la atención

porque se relacionan con la mala prescripción de antibióticos, ya que este tipo de resistencia inactivan a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactámicos, por lo que puede generarse una multiresistencia a distintos antimicrobianos, como las quinolonas, aminoglicosidos y tetraciclinas, cuya resistencia es creciente generando un grave problema para el control de infecciones en los centros y hospitales de salud.

Finalmente en nuestro estudio se encontró que las mujeres en estado de gestación son más propensas a adquirir una infección de vías urinarias en el segundo trimestre con un porcentaje de 46,43%, seguido por el tercer trimestre con el 35,71%; resultados similares al estudio realizado en Ecuador por Romero et al. (2019) donde reporta que la mayor parte de las infecciones urinarias se presentaron en el segundo trimestre de gestación con el 53,13%, seguido por el primer trimestre 29,68% y finalmente por el tercer trimestre con un porcentaje del 17,19%, los cuales son valores cercanos a la presente investigación. Sin embargo, en otras investigaciones realizadas en México por Zúñiga-Martínez et al. (2019), evidenciaron la mayor prevalencia del 55,1% de IVU durante el primer trimestre del embarazo, al verificar nuestros resultados con X^2 , notamos que no hay relación entre el periodo de embarazo con las infecciones del tracto urinario, aunque es muy importante detectar las infecciones en el primer trimestre de gestación, puesto que el cuerpo enfrenta varios cambios producto del embarazo, volviéndose vulnerable en todos los trimestres y de esa manera le es más fácil el ingreso de bacterias con la proliferación del tracto urinario, aumentando las probabilidades de padecer un aborto espontáneo en los primeros meses y si esta infección no es tratada a tiempo en meses posteriores se puede llevar a complicaciones graves como nacimientos pre término, niños con bajo peso y anemia como complicaciones de las IVU (Delgado y Ortega, 2022).

8. Conclusiones

De las 198 muestras de orina analizadas, se determinó que 28 muestras dieron un urocultivo positivo con el 14,14%, prueba fundamental para el diagnóstico de infección de vías urinarias en pacientes gestantes; mientras que las 170 muestras restantes formaron parte de las negativas con un 85,86% respectivamente.

Se identificó que el principal agente causal de infecciones de vías urinarias durante el embarazo fueron *Escherichia coli* con un 67,86%, evidenciándose una enorme ventaja en comparación del resto de agentes etiológicos encontrados como lo son *Enterococcus faecalis* en 17,86%, y *Klebsiella pneumonia* en 14,28%. Así mismo, se encontró microorganismos productores de BLEE en un 7,14%.

De la misma manera se evidenció mediante el antibiograma que la ampicilina, ciprofloxacina y trimetoprim/sulfametoxazol al poseer una alta resistencia mayor al 25% se limita su uso terapéutico hacia las mujeres gestantes, poniendo en riesgo su vida y la de su bebé, sin embargo, la nitrofurantoína sigue considerándose una buena opción para el tratamiento inicial de infecciones de vías urinarias en el embarazo.

La edad gestacional que tiene mayor frecuencia de presentar infecciones urinarias fueron el segundo trimestre con un 46,43% del total, seguido por el tercer trimestre con el 35,71% y finalmente el primer trimestre con el 17,86%.

9. Recomendaciones

- Se recomienda la realización de estas investigaciones en lugares donde hay poblaciones vulnerables, puesto que es ahí donde más se necesitan la ayuda diagnóstica y el tratamiento correcto, ya que existen factores socioeconómicos predisponentes a estas infecciones.
- De igual manera es fundamental la realización de estos estudios continuamente, ya que con ello aportamos a la Epidemiología local en la identificación oportuna de los perfiles de resistencia que desarrollan los microorganismos y de esa manera poder determinar los esquemas farmacológicos apropiados para cada uno de ellos.
- Estandarizar protocolos establecidos por organizaciones reconocidas a nivel mundial como lo son, los manuales del CLSI M100, para que tanto el personal de salud, como los estudiantes que realizan investigaciones de este tipo, adopten las mismas técnicas y procedimientos como metodología.

10. Bibliografía

- Acuña, E., Córdoba, A., Bustamante, M. del R., Suranlly Garzón, L., Rojas, J. L., Franco, A., & Molina, S. (2019). Trastornos hipertensivos en el embarazo con infección urinaria. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, 28(1), 39–44. <https://doi.org/10.31260/repertmedcir.v28.n1.2019.875>
- Alviz, A. A., Gamero, T. K., Caraballo, M. R., & Gamero, T. J. (2018). Prevalencia de infección del tracto urinario, uropatógenos y perfil de susceptibilidad en un hospital de Cartagena, Colombia. 2016. *Revista Facultad de Medicina*, 66(3), 313–317. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.62601>
- Arendrup, M. C., Friberg, N., Mares, M., Kahlmeter, G., Meletiadis, J., Guinea, J., Andersen, C. T., Arikian-Akdagli, S., Barchiesi, F., Chryssanthou, E., Hamal, P., Järv, H., Klimko, N., Kurzai, O., Lagrou, K., Lass-Flörl, C., Matos, T., Muehlethaler, K., Rogers, T. R., & Velegriaki, A. (2020). How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). *Clinical Microbiology and Infection*, 26(11), 1464–1472. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.007>
- Arés, F. Á., Martínez, R. de la O. S.-L., & Alfayate, S. M. (2017). Quinolonas en Pediatría. *Revista de Pediatría de Atención Primaria*, 19(1), 83–92.
- Argemi, X., Hansmann, Y., Prola, K., & Prévost, G. (2019). Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms20051215>
- Arispe, M., Callizaya, L., Yana, L., Mendoza, M., Mixto, J., Valdez, B., Mendoza, E., Magariños, W., & Torrico, B. (2019). Importancia del examen general de orina, en el diagnóstico preliminar de patologías de vías urinarias renales y sistémicas, en mujeres aparentemente sanas. *Revista Con-Ciencia*, 7(1), 93–101.
- Arredondo, J. L. G., Echeguren, A. M. F., Arzate, P. B., & Medina, J. H. C. (2018). Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica*, 31(2), 56–61. <https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2018/lip182d.pdf>
- Astocondor, L. S. (2018). Betalactamasas: la evolución del problema. *Revista Peruana de Investigación En Salud*, 2(2), 42–49. <https://doi.org/https://doi.org/10.35839/repis.2.2.224>

- Barrero, L. C. (2016). Microbiología Clínica. In *Universidad Europea de Madrid* (Primera). Editorial Síntesis S. A. <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
- Brenner, G. M., & Stevens, C. W. (2019). *Farmacología Básica* (Quinta Edición). Elsevier España, S.L.U.
- Bisso, A. A. (2018). Resistencia a los antimicrobianos. *Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 31(2), 50–59. <https://doi.org/https://bit.ly/3cIO6tN>
- Campo, U. M. L., Ortega, A. N., Parody, M. A., & Gómez, R. L. del C. (2017). Characterization and susceptibility profile of uropathogens associated with the presence of asymptomatic bacteriuria in pregnant women in the department of Atlántico, Colombia 2014-2015. Cross-sectional study. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 68(1), 2014–2015. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18597/rcog.2981>
- Carey, R. B., Bhattacharyya, S., Kehl, S. C., Matukas, L. M., Pentella, M. A., & Schuetz, A. N. (2018). Implementing a Quality Management System in the Medical Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(3), 1–78. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/CMR.00062-17>.
- Carroll, K. C., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., McKerrrow, J. H., & Sakanari, J. A. (2016). *Microbiología Médica* (27th ed., Vol. 53, Issue 9). Editorial McGraw-Hill Education.
- CDC, C. para el C. y la P. de E., & OMS, O. M. de la S. (2019). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. *Medicina & Laboratorio*, 15(03–04), 171–196. <https://bit.ly/3aSPM2u>
- Centeno, D. S., Salvatierra, G. R., & Calle, S. E. (2018). Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de infecciones en animales. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(2), 580–587. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14491>
- Cercenado, E. (2017). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. *Revista Española de Quimioterapia*, 28(Suppl. 1), 8–11. https://doi.org/https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_sup1_cercenado.pdf
- Cercenado, E., & Saavedra, J. L. (2018). El antibiograma. Interpretación del antibiograma:

- conceptos generales. *Anales de Pediatría*, 7(4), 214–217. <https://doi.org/10.1016/b978-84-458-1845-9.50012-8>
- CLSI. (2020). M100Ed30 | Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. In *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (Vol. 9, Issue 8). <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- CLSI, C. and L. S. I. (2022). CLSI M100 ED32:2022 — “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 32th Edition”. In *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (Vol. 42, Issue 2). <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI M100 ED32:2022&format=SPDF>
- Cobas, L., Navarro, G. Y., & Mezquia, de P. N. (2021). Gestantes con infección urinaria pertenecientes a un área de salud del municipio Guanabacoa, La Habana. *Revista Médica Electrónica*, 43(1), 408–411.
- Córdova, D. E. (2017). Resistencia en bacilos Gram Negativos. *Oceano Medicina*, 1, 1–56.
- Delgado, E., & Álzate, A. M. (2020). SERIES DE IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA (UREA , CITRATO , LISINA , SIM Y TSI). *Medios de Diagnóstico Microbiológico - Científica*, 57(4), 1–5. <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/03/IS-24-SERIES-DE-IDENTIFICACION-BIOQUIMICA.pdf>
- Delgado, P. M. (2019). Infecciones Urinarias. *EMC - Tratado de Medicina*, 22(2), 1–8. [https://doi.org/10.1016/s1636-5410\(18\)89311-4](https://doi.org/10.1016/s1636-5410(18)89311-4)
- Delgado, P. M., & Ortega, Y. G. (2022). Infecciones de la Vías Urinarias y de Trasmisión Sexual. *NEFROLOGÍA AL DÍA*, 1(1), 1–88. <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-462>
- Echevarría, J. Z., Aguilar, E. S., & Osore, P. F. (2018). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Médica Peruana*, 23(22), 26–31. chito@upch.edu.pe
- Ehlers, S., & Merrill, S. A. (2021). *Stafilococcus saprophyticus*. *StatPearls*, 1(1), 22–37.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2009). *Bailey&Scott Diagnóstico Microbiológico* (M. Panamericana (ed.); 12 Edición).
- García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J., Orta Mira, N., & Sánchez Romero, M. I. (2017). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) Procedimientos En Microbiología Clínica*, 1(2), 1–69.

- Gastelo, A. R. M., Díaz, S. R. S., & Maguiña, V. C. (2018). Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. *Revista Acta Medica Peruana (AMP)*, 33(3), 183–188. <https://doi.org/10.35663/amp.2016.333.110>
- Gil, J. M., Cabello, V., Campo, P. M., & Barrera, J. (2018). *Bacteriuria Asintomática*. Guía Prioam. <https://www.guiaprioam.com/indice/bacteriuria-asintomatica/>
- Gómez, J., Eliza García, & Hernandez-Torres, A. (2017). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Revista Española de Quimioterapia*, 28(1), 1–60.
- Gomez, M. A. B., & Herrera, M. M. (2018). Resistencia bacteriana en urocultivos de una población de embarazadas de control prenatal en Bogotá junio 2013 –junio 2015. *Revista Biociencias*, 13(2), 95–104. <https://doi.org/https://doi.org/10.18041/2390-0512/biociencias.2.5003>
- González, M. J., Maguiña, V. C., & González, P. F. de M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Medica Peruana*, 36(2), 145–151. <https://doi.org/10.35663/amp.2019.362.816>
- González, M. C. C., Torrico, G., & Medina, M. (2017). Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología. *Revista de Investigación*, 2(4), 1–42. <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>
- Guzmán, N., & García, P. H. A. (2020). Novelty in the diagnosis and treatment of urinary tract infection in adults. *Revista Mexicana de Urología*, 80(1), 1–14.
- Hernández, J. M., Llanes, C. P., & Fabra, R. R. L. (2018). Basic principles of reading and understanding antibiograms for attending physicians. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*, 17(4), 603–619.
- Jaramillo, L. I. J., Ordoñez, A. K. J., Jiménez, L. A. C., & Uribe, C. M. C. (2021). Perfil clínico y epidemiológico de gestantes con infección del tracto urinario y bacteriuria asintomática que consultan a un Hospital de Mediana Complejidad de Antioquia (Colombia). *Revista Archivos de Medicina (Colombia - Manizales)*, 21(1), 57–66. <https://doi.org/https://doi.org/10.30554/archmed.21.1.3877.2021>
- Jiménez-Guerra, G., Heras-Cañas, V., Béjar Molina, L. del C., Sorlózano-Puerto, A., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2018). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections: Evolution of

- antimicrobial resistance and treatment options. *Medicina Clinica*, 150(7), 262–265. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.07.023>
- Kalinderi, K., Delkos, D., Kalinderis, M., Athanasiadis, A., & Kalogiannidis, I. (2018). Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 38(4), 1–7. <https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1370579>
- Liu, L. H., Wang, N. Y., Wu, A. Y. J., Lin, C. C., Lee, C. M., & Liu, C. P. (2018). Citrobacter freundii bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(4), 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.08.016>
- Lopardo, D. H. (2018). Urocultivo: Procesamiento, criterios de Interpretación e Informe. *Rev. Sanid. Mil. Argent*, 84(1), 1–24.
- Lopardo, Horacio A, Gobet, L., Viegas, C. J., Moviglia, A., Vigliarolo, L., & Suárez, M. (2016). *Introducción a la microbiología clínica* (M. Bertin & A. Manasanch (eds.); Primera). EDULP - Editorial de la Universidad de La Plata.
- Lopardo, Horacio Angel. (2020). *Antibióticos Clasificación, estructura, mecanismos de acción y resistencia*. EDULP- Editorial de la Universidad Nacional de la Plata.
- López, D. P. O. (2021). Urinary tract infections in pregnant women. *Revista Médica Sinergia*, 6(12), 745–756. <https://doi.org/https://doi.org/10.31434/rms.v6i12.745>
- López, V. J. A., & Campuzano, M. G. (2020). El urocultivo: prueba ineludible para el diagnóstico específico de la infección del tracto urinario y el uso racional de los antibióticos. *Medigraphic*, 19(5–6), 211–242.
- Marrero-Moreno, C., Mora Llanes, M., Hernández Fillor, R. E., Báez Arias, M., García Morey, T., & Espinosa Castaño, I. (2017). Identification of enterobacteria producing extended-spectrum beta-lactamases (BLEEs) in pig farms in Matanzas province. *Revista de Salud Animal*, 39(3), 1–15. <https://bit.ly/3xt5qcF>
- Martínez, D. R. (2021). *GUÍA ILUSTRADA DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA (Spanish Edition)* (Primera). Edición Kindle.
- Mérida, F. J. de la T., & Moreno, E. E. C. (2015). *Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico*. Editorial Médica Panamericana.
- Milá-Pascua, M., Aties-López, L., & Torres-Milá, I. (2020). Urocultivo y Parcial de Orina en el

- Diagnóstico de las Infecciones del tracto urinario. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 45(1), 1–7. <https://bit.ly/3m0uXEN>
- Morales, P. G. I., Castro, A. G., Mendoza, B. Y. C., Rubiano, O. L. A., & Pacheco, V. J. M. (2017). Una mirada rápida al control de calidad interno en el quehacer diario del laboratorio de microbiología. *Medicina & Laboratorio*, 23(9–10), 459–474. <https://doi.org/10.36384/01232576.24>
- Murray, P. R. (2018). *Microbiología Médica Básica* (Primera Ed). Elsevier España, S.L.U.
- Navarro, F., Miró, E., & Mirelis, B. (2017). Interpretive reading of enterobacteria antibiograms. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(9), 638–645. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.05.002>
- Ochoa, S. C., Brezmes, V. M. F., Pérez, M. C., Solís, S. G., Molina, C. J. C., Lara, H. J., Conde, R. F., Bachiller, L. R., Eiros, B. J. M., Matías, D. P. V., Nogueira, G. B., Urueña, L. M. C., Andrés, D. L. J. M., Sáenz, M. J., Formigo, R. E., Cueto, B. M., González, N. M. C., Silva, H. N., González, G. H., ... Fernández, T. M. A. (2017). Métodos para la recogida de muestras de orina para urocultivo y perfil urinario. *Anales de Pediatría*, 67(5), 442–449. <https://doi.org/10.1157/13111597>
- Ortega-Peña, S., Franco-Cendejas, R., Salazar-Sáenz, B., Rodríguez-Martínez, S., Cancino-Díaz, M. E., & Cancino-Díaz, J. C. (2019). Prevalence and virulence factors of coagulase negative Staphylococcus causative of prosthetic joint infections in an orthopedic hospital of Mexico. *Cirugía y Cirujanos*, 87(4), 428–435. <https://doi.org/10.24875/CIRU.19000690>
- Papadakis, M. A., McPhee, S. J., & Rabow, M. W. (2021). *Diagnóstico clínico y tratamiento 2021* (Sexagésima). McGraw-Hill Education.
- Pasachova, G. J., Ramirez, M. S., & Muñoz, M. L. (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), 25–38. <https://doi.org/https://doi.org/10.22490/24629448.3631>
- Pérez-Cano, H. J., & Robles-Contreras, A. (2017). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica MD*, 4(3), 186–191.
- Quirós, D. C. A. L., & Apolaya, S. M. (2018). Prevalencia de infección de la vía urinaria y perfil microbiológico en mujeres que finalizaron el embarazo en una clínica privada de Lima, Perú. *Revista de Ginecología y Obstetricia de México*, 86(10), 634–639. <https://doi.org/https://doi.org/10.24245/gom.v86i10.2167>

- Rodríguez-Barraza, W. C. (2019). Infección Urinaria Gestacional Como Fuente De Complicaciones Perinatales Y Puerperales. *Biociencias*, 14(1), 141–153. <https://doi.org/10.18041/2390-0512/biociencias.1.5341>
- Rodríguez, P. A., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica*, 16(2), 166–167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Rodríguez, S. C., Recalde, R. D., & Padilla-Sanabria, L. (2017). Análisis del uso de antibióticos en antibiogramas de urocultivos realizados por un laboratorio clínico de la región centro-occidental de Colombia. *Universidad y Salud*, 19(3), 378–387. <https://doi.org/10.22267/rus.171903.100>
- Romero, K. V., Murillo, F. M. A., Salvent, A. T., & Vega, V. F. (2019). Evaluación del uso de antibióticos en mujeres embarazadas con infección urinaria en el Centro de Salud “Juan Eulogio Pazymiño” del Distrito de Salud 23D02. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 84(3), 169–178. <https://doi.org/10.4067/s0717-75262019000300169>
- Ruiz, R. E., & Porres, O. N. (2018). *Microbiología Clínica* (S. A. Ediciones Paraninfo (ed.); Primera Ed).
- Sáinz, de B. C. C., Bartolomé, Á. J., Blas, S. J., Carranza, G. R., Escribano, G. E., Lozano, S. J., Parras, P. T., Riquelme, B. E., Robles, P. D., & Simarro, M. E. C. (2020). *Manual de recogida, transporte y conservación de muestras* (5ta Edició). Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. <https://bit.ly/3PJZrIN>
- Sánchez-Neira, Y., & Angarita-Merchán, M. (2018). Determinación de hemólisis en cepas de *Staphylococcus* spp causantes de mastitis bovina. *Revista Investigación En Salud Universidad de Boyacá*, 5(1), 15–30. <https://doi.org/10.24267/23897325.266>
- Sanín, D. R., Calle, C. M., Jaramillo, C. M., Nieto, J. R., Marín, D. P., & Campo, M. C. (2019). Etiological prevalence of urinary tract infections in symptomatic pregnant women in a high complexity Hospital in Medellín , Colombia , 2013-2015. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 70(4), 243–252. <https://doi.org/https://doi.org/10.18597/rcog.3332>
- Saquipay, O. H. V., Ñauta, U. M. E., Chacón, J. V. de los Á., Valencia, S. M. A., & Alulema, A. J. O. (2021). Prevalencia y factores asociados a infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del hospital municipal del Niño y la Mujer de la ciudad de Cuenca de febrero a julio de 2015. *Revista Científica Mundo de La Investigación y El Conocimiento (Recimundo)*,

- 5(3), 339–345. [https://doi.org/10.26820/recimundo/5.\(3\).sep.2021.339-345](https://doi.org/10.26820/recimundo/5.(3).sep.2021.339-345)
- Seija, V. (2019). COCOS GRAM POSITIVOS: Aspectos prácticos. *Revista Biociencia*, 4(1), 1–5. <https://doi.org/http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2019.pdf>
- SNS, S. N. de S. (2018). Infección urinaria y embarazo. *EMC - Ginecología-Obstetricia*, 29(2), 33–39. [https://doi.org/10.1016/s1283-081x\(18\)41444-0](https://doi.org/10.1016/s1283-081x(18)41444-0)
- Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2018). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3), 223–233.
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2017). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *REvista de Bacterología y Virología Médica*, 36(2), 663–671. <http://higiene.edu.uy/cefa/2017/BacteCEFA36.pdf>
- Torres, L. O. D., Hernández, P. I., Meneses, N. C., & Ruvalcaba, L. J. C. (2020). Urinary infection as a risk factor for preterm delivery. *Journal of Negative and No Positive Results*, 5(11), 1426–1443. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.3779>
- Troncoso, M. (2017). Agar Mueller Hinton II con 5% de sangre de cordero Código. *INSUMOLAB*, 1(1), 5–7. <https://amilab.cl/files/PMH7373.pdf>
- Vicente de Mária, C., & Campos, O. (2019). Guía Práctica para la estandarización del procesamiento y examen de las muestras de orina. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 2(457896321), 1–31.
- Viquez, V. M., Chacón, G. C., & Rivera, F. S. (2020). Infecciones del tracto urinario en mujeres embarazadas. *Revista Medica Sinergia*, 5(5), 1–12. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i5.482>
- Wiley, J., & Sons. (2018). Antibiotics for asymptomatic bacteriuria. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 29(2), 251–255. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd009534>
- Zboromyrska, Y., López, M. de C., Tarrés, C., & Sánchez, V. (2019). Procedimiento de Microbiología Clínica/Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica - Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. *SEIMC*, 1, 1–78. [file:///C:/Users/LENOVO/Documents/UCE/uce 2021-2021/INTERPRETACION CLINICA/seimc-procedimiento14a](file:///C:/Users/LENOVO/Documents/UCE/uce%202021-2021/INTERPRETACION%20CLINICA/seimc-procedimiento14a)
- Zendejas, G. S., Avalos, H., & Soto, M. Y. (2017). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades de patogenicidad, métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 129–143. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>
- Zúñiga-Martínez, M. de L., López-Herrera, K., Vértiz-Hernández, Á. A., Loyola-Leyva, A., &

Terán-Figueroa, Y. (2019). Prevalencia de infecciones de vías urinarias en el embarazo y factores asociados en mujeres atendidas en un centro de salud de San Luis Potosí, México. *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 27(77), 47–55. <https://doi.org/https://www.redalyc.org/journal/674/67459697006/html/>

11. Anexos

Anexo N° 1. Oficio de pertinencia del trabajo de investigación curricular



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0092-CLC-FSH-UNL
Loja, 28 de enero de 2022

Señorita
Deysi Marlene Chalán Montenegro
**ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE
LA SALUD HUMANA-UNL.**
Ciudad. –

De mi consideración:

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lic. Iliana Alicia Delgado, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respeto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS Y ANTIBIOGRAMA EN UROCULTIVOS DE EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA"**, de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art. 225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes..

Atentamente,



SANDRA
ELIZABETH
FREIRE CUESTA

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

Anexo N° 2. Oficio de aprobación y designación de director del trabajo de integración curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0062-CLC-FSH-UNL
Loja, 24 de enero de 2022

Licenciada

Iliana Alicia Delgado

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

Ciudad. –

De mi consideración:

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, aprobado el 7 de julio de 2009 una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Directora del trabajo de Investigación curricular, titulado: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS Y ANTIBIOGRAMA EN UROCULTIVOS DE EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N° 1, DE LOJA"**, referente al periodo **ENERO – ABRIL 2022.**, de autoría de la Srta. **DEYSI MARLENE CHALAN MONTENEGRO** estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Con los sentimientos de consideración y estima, quedo de usted agradecida

Atentamente,



**SANDRA
ELIZABETH
FREIRE CUESTA**

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

Anexo N° 3. Oficio de autorización para la toma de muestras



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-0091-CLC-FSH-UNL
Loja, 28 de enero de 2022

Doctora
Paulina Elizabeth Quizhpe Tapia
RESPONSABLE DEL CENTRO DE SALUD N° 1 LOJA
Ciudad. –

De mi consideración:

Por medio del presente, me dirijo a usted, con la finalidad de expresarle un cordial y respetuoso saludo, deseándole éxito en el desarrollo de sus delicadas funciones. Aprovecho la oportunidad para solicitarle de la manera más respetuosa, se digne conceder su autorización a la Srta. Deysi Marlene Chalan Montenegro, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, para la recepción de muestras de orina de las pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud, siempre y cuando se cuente con el consentimiento del paciente; información que servirá para cumplir con el trabajo de investigación denominado: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS Y ANTIBIOGRAMA EN UROCULTIVOS DE EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N° 1, DE LOJA"**, trabajo que lo realizaré bajo la supervisión de la Licenciada Iliana Alicia Delgado, Catedrática de nuestra carrera.

Por la atención que se digne dar al presente, le expreso mi agradecimiento personal e institucional.

Atentamente,



SANDRA
ELIZABETH
FREIRE CUESTA

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

c.c. Archivo
María del C. Salazar L.

Recibido
y Aprobado
2022-02-14
16:48
Dra. Paula Quihpe I.
MÉDICO GENERAL
C.I.D. 3167201
INMAT. 1108-03144-17

Anexo N° 4. Oficio de autorización del Decano de la Facultad de Salud Humana para el análisis de las muestras en el Laboratorio de Microbiología Clínica y Parasitología



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Of. Nro. 2022-077-DFSH-UNL
Loja, 10 de febrero de 2022

Señorita
Deysi Marlene Chalán Montenegro
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
Presente.-

De mi especial consideración:

En atención a Of. No. 2022-00162-CLC-FSH-UNL de 10 de febrero de 2022, suscrito por la Dra. Sandra Freire Cueca, Directora de la Carrera de Laboratorio Clínico, en mi calidad de Autoridad Académica de esta Facultad, en el marco del proyecto de tesis denominado: **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS Y ANTIBIOGRAMA EN UROCULTIVOS DE EMBARAZADAS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No. 1 DE LOJA"**; autorizo el procesamiento de muestras de orina en el Laboratorio de Microbiología Clínica.

De la misma manera, autorizo a la Lic. Silvia Molina, técnica docente responsable del referido laboratorio, brinden el apoyo requerido por la Srta. Chalán Montenegro.

Aprovecho la oportunidad para reiterar mi sentimiento de consideración y estima.

Atentamente,
**EN LOS TESOROS DE LA SABIDURIA,
ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA.**



Autenticado por:
**SANTOS AMABLE
BERMEO FLORES**

Dr. Amable Bermeo Flores, Mg. Sc.
DECANO FACULTAD DE LA SALUD HUMANA UNL.



Anexo N° 5. Certificado de traducción


Formar
CENTRO DE CAPACITACIÓN PROFESIONAL

wei - LOJA, N° 001260

Yo, Lic. Freddy P. Castillo H., profesor de WEI ENGLISH INSTITUTE;

Certifico:

Que tengo el conocimiento y dominio de los idiomas español e inglés y que las traducciones de los siguientes:

RESUMEN DE TESIS: "Identificación de agentes etiológicos y antibiograma en urocultivos de embarazadas que acuden al Centro de Salud N°1 de Loja"

para: **CHALAN MONTENEGRO DEYSI MARLENE**

es verdadero y correcto a mi mejor saber y entender, sin haber cambiado, aumentado o disminuido su sentido en ninguna línea o párrafo del mismo.



Firmado en Loja a los veinte días del mes de septiembre de 2022



FORMAR CÍA. LTDA.
LOJA - ECUADOR

wei
ENGLISH INSTITUTE
DIRECCIÓN ACADÉMICA

CENTRO DE CAPACITACIÓN PROFESIONAL

Segundo Cueva Cell 03 - 04 y Clodoveo Carrión / 07 - 2573489 - 2579934 - 0991037032

Anexo N° 6. Protocolo para el transporte de las muestras de orina

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	PROTOCOLO PARA EL TRANSPORTE DE MUESTRA DE ORINA	CODIGO: LCL-PNT-01
		Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		Fecha de Elaboración: Enero 2022
		Versión: 001 N° páginas: 2
ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		

TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ORINA DEL CENTRO DE SALUD N°1

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	Determinar los pasos y requerimientos necesarios para garantizar el transporte adecuado de las muestras de orina, dentro de los parámetros requeridos para su análisis posterior.	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	El transporte y conservación de muestras son etapas fundamentales en el diagnóstico clínico y en la investigación, para mantener la integridad de las muestras se deberá tener en cuenta los procedimientos de obtención, transporte, condiciones de conservación, destino final y bioseguridad, puesto que el control de estos aspectos proporcionarán un valor a las muestras asegurando su calidad y estabilidad, con el fin de obtener resultados confiables y oportunos ya que un manejo incorrecto de muestras con agentes infecciosos puede ocasionar morbi y mortalidad materno - fetal. (Arispe et al., 2019)		

Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales necesario para el transporte y conservación de las muestras.	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Recipiente Hermético (Cooler) • Lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro y traje protector interno)
Procedimiento para el transporte de las muestras de orina	<p>Una vez receptadas las muestras de orina de las pacientes embarazadas que acudan al Centro, procedemos a realizar el transporte de las mismas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Las muestras se deben procesar antes de las dos horas después de su obtención, ya que la orina es un medio de cultivo el cual permite la reproducción de los microorganismos aumentado el recuento bacteriano. 2. Se debe verificar correctamente la información de las etiquetas de las muestras con los datos personales de cada paciente y si es necesario rotular nuevamente, para mayor seguridad. 3. Cada muestra es colocada en el recipiente hermético y se las transporta al laboratorio de la facultad, aplicando todas las normas de bioseguridad para su posterior análisis. <p>Otra opción, los tubos de orina Vacutainer, comprenden un sistema cerrado evacuado, asegurando una proporción adecuada de orina. Además, la copa interior estéril con tapón de rosca minimiza el riesgo de fugas y contaminación de la muestra. Contienen el preservante Sorbitol que inhibe el crecimiento bacteriano, estos tubos se fabrican con politereftalato y contiene un estabilizador para mantener la muestra a temperatura entre 20 y 25 °C durante un máximo de 24 horas BD Vacutainer (2017)</p>		
Referencias bibliográficas	<p>Arispe, M., Callizaya, L., Yana, L., Mendoza, M., Mixto, J., Valdez, B., Mendoza, E., Magariños, W., & Torrico, B. (2019). Importancia del examen general de orina, en el diagnóstico preliminar de patologías de vías urinarias renales y sistémicas, en mujeres aparentemente sanas. <i>Revista Con-Ciencia</i>, 7(1), 93–101.</p> <p>Vacutainer-BD. (2017). <i>Recolectores de orina</i>. https://www.bd.com/en-us/offering/capabilities/specimen-collection/urine-specimen-collection</p>		


Anexo N° 7. Ficha de recolección de datos

Archivo Edición Ver Datos Transformar Analizar Marketing directo Gráficos Utilidades Ventana Ayuda										
Visible: 71 de 71 variables										
	Nombres	Código	Edad	Semanas_Gestación	Trimestre_Gestación	Muestra	Color	Aspecto	pH	
1	CEVALLOS LÓPEZ JENNIFER PAOLA	220215001	17	32,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Transparente	6,5	
2	CONTENTO SAMIRA	220215002	19	24,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	7	
3	ABRERA LALANGUI GLORIA ALEXANDRA	220215003	28	9,0	Primer Trimestre (1-12 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	5	
4	CÓRDOVA JAZMÍN	220215004	20	23,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	6	
5	CALDERON SILVA DEYSY CECILIA	220221005	38	31,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	6	
6	AREVALO QUEVEDO CROL FELY	220221006	30	37,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	6	
7	ESPARZA DURAZNO LIZBETH NATHALY	220221007	19	24,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	7	
8	ERAS ESPINOZA VERÓNICA DE LA NUBE	220221008	24	21,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	6,5	
9	PARRA HERRERA JHULIANA ELIZABETH	220221009	22	9,0	Primer Trimestre (1-12 semanas)	ORINA	Amarillo	Transparente	5	
10	UCHUARI ABRIGO JENNY DEL ROCIO	220221010	26	12,0	Primer Trimestre (1-12 semanas)	ORINA	Amarillo	Transparente	6	
11	BENÍTEZ CONTENTO MARÍA KATHERINE	220222011	28	21,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	6	
12	JIMÉNEZ CARTUCHE JHULY LAURA	220222012	19	26,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	6	
13	VARGAS TORRES ENMA TARCILA	220223013	24	28,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Transparente	6	
14	SARANGO ANDRAE DELIA BEATRIZ	220223014	40	24,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Transparente	8	
15	JIMÉNEZ PEÑA ANA OLIVIA	220223015	40	9,0	Primer Trimestre (1-12 semanas)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	5	
16	PAUTA CUENCA ANDREA GUISELLA	220224016	26	33,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Turbio	7	
17	MARTÍNEZ HARO ALISON KATHERINE	220224017	27	25,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Transparente	7,5	
18	RÍOS GUARTANZA JESSENIA ELIZABETH	220224018	24	38,0	Tercer Trimestre (Semana 27 hasta el parto)	ORINA	Amarillo	Transparente	6,5	
19	PAMBI ROMERO CARMEN ANABEL	220302019	23	12,0	Primer Trimestre (1-12 semanas)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	6,5	
20	MENDEZ SARANGO MILENA CAROLINE	220302020	20	26,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Turbio	5	
21	ROMERO JARAMILLO ANA LUCIA	220303021	31	23,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Transparente	6,5	
22	SILVA RIVERA NARCISA NATHALY	220303022	29	26,0	Segundo Trimestre (13-26 semanas)	ORINA	Amarillo	Ligeramente Turbio	7	

	Bacterias	Moco	Levaduras	Cristales	Cilindros	Condiciones	Gram_EMO	Cultiv
1	+	Normal	Cocos Gram +	
2	++	+	.	.	.	Normal	Cocos Gram +	
3	++++	+	.	.	.	Normal	Bacilos Gram -	
4	+++	+	.	.	.	Normal	Cocos Gram +	
5	+	+	.	.	.	Normal	Cocos Gram +	
6	+	Normal	Cocos Gram +	
7	++	.	+++	.	.	Contamina...	Bacilos Gram + (Flora de Döderlein)	
8	++	+	++	.	.	Contamina...	Bacilos Gram + (Flora de Döderlein)	
9	+	Normal	Cocos Gram +	
10	+	Normal	Cocos Gram +	
11	+	Normal	Cocos Gram +	
12	+++	+	.	Oxalatos d...	Granulosos de partículas finas	Normal	Cocos Gram +	
13	+	Normal	Cocos Gram +	
14	+	Normal	Cocos Gram +	
15	+	Contamina...	Bacilos Gram + (Flora de Döderlein)	
16	++	+	.	Fosfatos A...	.	Normal	Cocos Gram +	
17	++	+	.	.	.	Normal	Cocos Gram + solos, distribuidos en pares o en cadenas de tres cocos	
18	+++	Normal	Cocos Gram + organizados en racimo	
19	+	.	.	Oxalatos d...	.	Normal	Cocos Gram +	
20	++++	++	.	.	.	Contamina...	Bacilos Gram + (Flora de Döderlein)	
21	+++	Normal	Cocos Gram +	
22	+	Normal	Cocos Gram +	

	Cultivo_Germen_EMO	Colonias_UFC	Penicilina	Oxacilina	Ampicilina	Vancomicina	Ertromicina	Azitromicina	Clindamicina	Linezolid	Cefazolina	Cefadroxilo	Cefalexina
1	Sin crecimiento bacteriano
2	Sin crecimiento bacteriano
3	Escherichia coli	>100.00 UFC
4	Sin crecimiento bacteriano
5	Sin crecimiento bacteriano
6	Sin crecimiento bacteriano
7	Sin crecimiento bacteriano
8	Sin crecimiento bacteriano
9	Sin crecimiento bacteriano
10	Sin crecimiento bacteriano
11	Sin crecimiento bacteriano
12	Sin crecimiento bacteriano
13	Sin crecimiento bacteriano
14	Sin crecimiento bacteriano
15	Sin crecimiento bacteriano
16	Sin crecimiento bacteriano
17	Enterococcus faecalis	>100.00 UFC	.	.	Sensible	Sensible	Sensible	.	Sensible	Sensible	.	.	.
18	Staphylococcus epidermidis	>100.00 UFC	.	.	.	Sensible	Resistente	.	Sensible	Sensible	.	.	.
19	Sin crecimiento bacteriano
20	Sin crecimiento bacteriano
21	Sin crecimiento bacteriano
22	Sin crecimiento bacteriano

Anexo N° 8. Protocolo para la realización del examen EMO

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	PROTOCOLO PARA LA REALIZACIÓN DEL EXAMEN ELEMENTAL	CODIGO: LCL-PNT-02
		Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		Fecha de Elaboración: Enero 2022
		Versión: 001 N° páginas: 5
ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		

EXAMEN ELEMENTAL Y MICROSCÓPICO DE ORINA


Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	Realizar correctamente el análisis de orina de una manera ordenada y siguiendo el protocolo correspondiente.	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	El examen elemental y microscópico de orina es un conjunto de pruebas que detectan y miden de manera cualitativa y semicuantitativa los distintos componentes eliminados, incluyendo productos intermediarios del metabolismo como la urea y creatinina, de igual manera se puede conservar, bacterias, hongos, células u otros microorganismos patógenos. El estudio completo consiste de tres fases diferenciadas: examen físico, examen químico y examen microscópico (Arispe et al., 2019).		
Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales necesario para el análisis de las muestras de orina	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Recipiente Hermético (Cooler) • Lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad • Tubos de ensayo • Portaobjetos • Cubreobjetos • Tiras reactivas
		Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Centrifuga • Microscopio

<p>Procedimiento para el examen físico de la muestra orina</p>	<p>El examen físico, comprende la observación macroscópica de la muestra pudiendo diferenciarse el color, olor, volumen y aspecto de turbio, ligeramente turbio o transparente.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se rotula el tubo de ensayo con el código de la paciente para trasvasar una cierta cantidad de orina y verificar sus características macroscópicamente. 2. En una hoja en blanco se anota, el color, el olor, volumen y la apariencia. 3. Para evidenciar el aspecto de la muestra se debe colocar un papel periódico detrás de ella, frente a una fuente de luz, se observa si la muestra tiene aspecto turbio (el papel periódico no puede ser visto ni se puede leer), ligeramente turbio (el papel periodo se puede leer cuando se ve a través del tubo de orina) y transparente (el papel se ve y se lee con total claridad) Brunzel (2014).
<p>Interpretación</p>	<p>Valores normales: color: de paja a amarillo, pálido a oscuro; aspecto: transparente o ligeramente turbio</p> <p style="text-align: center;">1. Otros colores</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Incoloro: por consumo reciente de líquido; correlación: observado con frecuencia en muestras al azar. ○ Amarillo pálido: causado por Diabetes mellitus densidad elevada y resultado positivo de la prueba química de glucosa. ○ Ámbar: deshidratación por fiebre o quemaduras ○ Verde: infección por <i>Pseudomonas</i> urocultivo positivo ○ Roja: hemoglobina, presencia de eritrocitos sedimentados. <p style="text-align: center;">2. Turbidez</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Transparente: no se observan partículas. ○ Ligeramente turbia: pocas partículas, las letras de un texto se ven con facilidad a través de la orina ○ Nebulosa: muchas partículas; las letras de un texto se ven borrosas a través de la orina. ○ Turbia: no se pueden ver las letras de un texto a través de la orina
<p>Procedimiento para el examen químico de la muestra de orina</p>	<p>Se utilizan tiras de orina que reaccionan químicamente a los diferentes compuestos presentes en la misma como pH, densidad, leucocitos, eritrocitos, glucosa, cetonas, nitritos, proteínas, bilirrubinas y urobilinógeno.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se rotula el tubo de ensayo con el código de la paciente para trasvasar una cierta cantidad de orina y realizar el análisis químico de la orina.

	<ol style="list-style-type: none"> 2. Se mezcla la muestra de orina para homogenizarla. 3. Luego se coloca alrededor de 6 ml de la muestra de orina en un tubo de ensayo de 8 ml. 4. Posterior se introduce en la muestra de orina la tirilla reactiva, aproximadamente 2 segundos. 5. Se elimina el resto de orina sobrante en la tira reactiva. 6. A continuación, se lee los parámetros bioquímicos que se detalla en la tirilla de manera inmediata, con límite de 1 minuto. 7. Se compara los colores logrados en la tirilla reactiva la etiqueta. 8. Finalmente, se anota los resultados.
<p>Interpretación</p>	<p>pH: normalmente la orina mantiene un rango entre 5.5 a 6.5 en la primera muestra de la mañana. Un pH menor a 7 indica acidosis metabólica, tubular renal e insuficiencia renal, mientras que pH mayor a 7 se puede deber a alcalosis metabólica o diuréticos</p> <p>Densidad: El valor normal es de 1016 a 1022, por lo que podemos decir un valor menor a 1010, productor de hidratación y un valor mayor a 1020 sospecha de deshidratación.</p> <p>Proteínas: Normalmente en la orina no debe haber proteínas en la orina. En general, deben ser menores a 10 mg/dl, sin embargo, un valor por encima de 150 mg por día en la orina, se define proteinuria.</p> <p>Glucosa: Aparece glucosa en orina (glucosuria) cuando se sobrepasa el umbral de reabsorción tubular) 180 a 200 mg/dl), presente en patologías como síndrome de Cushing y diabetes mellitus mayormente.</p> <p>Cuerpos cetónicos: Se puede dar por descompensación diabética o debido a ayuno, embarazo y dieta rica en carbohidratos</p> <p>Nitritos: Microorganismos como las bacterias tienen la capacidad de reducir los nitratos a nitritos y de ahí su presencia en la orina.</p> <p>Esterasa leucocitaria: Indica la sospecha de infección ya que, es producida por neutrófilos, células del sistema inmune.</p> <p>Bilirrubina y urobilinógeno: Sustancia de color amarillento, la cual es producida por el proceso de descomposición de los eritrocitos. El urobilinógeno es originado por las bilirrubinas, y es signo de problemas con el hígado o vesícula Bruzel (2014).</p>
<p>Procedimiento para el examen microscópico de la muestra de orina</p>	<p>El examen microscópico forma parte del análisis de orina de rutina. Por ello según varios autores indican que el valor de dicho examen depende de</p>

	<p>dos factores fundamentales: el examen de una muestra adecuada y el conocimiento de la persona que realiza el estudio.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. La muestra de orina se debe centrifugar durante 5 a 10 minutos a 3500 rpm aproximadamente. 2. Luego se decanta el sobrenadante, de modo que quede aproximadamente 0,5 ml del sedimento y se lo mezcla por unos segundos para que se homogenice. 3. Se rotulan los portaobjetos a utilizar, verificando siempre que los códigos de las pacientes coincidan con la muestra de orina. 4. A continuación, se coloca una gota del sedimento urinario sobre el portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos. 5. Observar el sedimento urinario con un microscopio óptico utilizando primero el lente de 10x y posterior el lente de 40x, en el mismo se reportará lo observado en el microscopio. 6. Finalmente se reportan los resultados. 7. Una vez terminada la observación se coloca los materiales en un recipiente con agua y un poco de detergente para su posterior limpieza y esterilización.
<p>Interpretación</p>	<p>Análisis del sedimento: Células</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hematíes (Hematuria). Normalmente no hay hematíes en la orina. Sin embargo, se puede hallar normalmente de 1 a 3 eritrocitos por campo - Leucocitos (Piuria). Se consideran normales recuentos de hasta 5 leucocitos/campo, mayor a ellos es indicio de un proceso inflamatorio, infección de vías urinarias o riñones. - Células epiteliales, se puede observar de varios tipos escamosas, de transición o renales y no tienen significado clínica. - Cilindros. Tienen su origen en la luz de los túbulos renales y están formados por la mucoproteína Tamm-Horsfall. Son de interés en el diagnóstico de enfermedades renales y tienen significado pronóstico. - Cristales. Normalmente la orina es estéril, por lo que no hay la presencia de cristales, pero se los puede observar en tiempos prolongados de reposo de la muestra; el pH de la orina, entre otras características Bruzel (2014).
<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Arispe, M., Callizaya, L., Yana, L., Mendoza, M., Mixto, J., Valdez, B., Mendoza, E., Magariños, W., & Torrico, B. (2019). Importancia del examen general de orina, en el diagnóstico preliminar de patologías de vías urinarias renales y sistémicas, en mujeres aparentemente sanas. <i>Revista Con-Ciencia</i>, 7(1), 93–101.</p> <p>Brunzel, N. A. (2014). <i>Fundamentos del Análisis de Orina y Fluidos Corporales</i> (Tercera Ed). AMOLCA.</p>

Anexo N° 9. Protocolo para la preparación de medios de cultivo

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS	CODIGO: LCL-PNT-03
		Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		Fecha de Elaboración: Enero 2022
		Versión: 001 N° páginas: 4
ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO


Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	Preparar correctamente los medios de cultivo, con toda la asepsia posible, siguiendo las indicaciones que el fabricante indica.	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	El medio de cultivo constituye el aporte de nutrientes indispensables para el crecimiento de los microorganismos, puesto que la composición precisa dependerá de la especie bacteriana que se quiere cultivar, porque las necesidades nutricionales varían considerablemente, ya que hay microorganismos muy poco exigentes que crecen bien en medios de laboratorio normales y microorganismos muy exigentes que necesitan determinadas sustancias como vitaminas, suero o sangre para crecer, lo indica Lopardo (2016).		
Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales para la preparación de los medios de cultivo a utilizar.	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Agares (Sangre, E. M. B. MacConkey y Muller Hinton • Lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad • Cajas Petri • Matraz • Mechero de Bunsen • Fósforos

			<ul style="list-style-type: none"> • Gasas • Pinzas • Agua destilada • Balanza electrónica • Autoclave • Cocineta
<p>Procedimiento para la preparación de Agar Sangre</p>	<p>Fundamento: Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos, puesto que la infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de dichos microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. Componente como el cloruro de sodio es quien mantiene de forma equilibrada el balance osmótico del agar, siendo este un agente solidificante, de la misma manera el agregado de 5 a 10% de sangre ovina promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la conservación de los eritrocitos íntegros favorece la formación de halos de hemólisis nítidos, facilitando la diferenciación de algunas especies hemolíticas Britania (2016).</p> <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se debe suspender 40 g del polvo en 1000 ml de agua destilada. 2. Dejar reposar por 5 minutos y mezclar correctamente hasta obtener una suspensión homogénea. 3. Se calienta agitando varias veces, hasta el punto de hervir para lograr una disolución total del medio. 4. Esterilizar a 121 °C durante 20 minutos Britania (2016). <p>Interpretación: Observar las características de las colonias</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hemólisis Alfa: se trata de la lisis parcial de los eritrocitos, observando un halo de color verdoso alrededor de las colonias, producto de la oxidación de la hemoglobina Britania (2016). ▪ Hemólisis Beta: lisis total de los eritrocitos, generándose un halo claro, brillante alrededor de las colonias Britania (2016). ▪ Hemólisis Gamma: ausencia de lisis de los eritrocitos, por tal razón el medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia Britania (2016). 		
<p>Procedimiento para la preparación de Agar MacConkey</p>	<p>Fundamento: Medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y diferenciación de <i>Enterobacteriaceae</i> y diversos bacilos gram negativos; en el medio de cultivo las peptonas contribuyen los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono</p>		

	<p>fermentable, útil para la diferenciación entre bacilos fermentadores y no fermentadores de lactosa, y que la fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia, produciendo un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares, mientras que microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras Gaterman (2016).</p> <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se debe suspender 49,53 gramos de medio deshidratado en 1000 ml/agua destilada, luego se calienta hasta ebullición para disolver el medio completamente. 2. Posteriormente se esteriliza en autoclave a 121 ° C durante 15 min, evitar el sobrecalentamiento y enfriar a 45 a 50 ° C. 3. Luego, se mezcla bien antes de verter en placas de Petri estériles Gaterman (2016). <p>Interpretación:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Microorganismos fermentadores de lactosa: colonias rosadas-rojizas. Puede observarse halo de precipitación biliar ○ Microorganismos no fermentadores de lactosa: colonias del color del medio, incoloras Gaterman (2016).
<p>Procedimiento para la preparación de Agar E.M.B (con Eosina y Azul de Metileno)</p>	<p>Fundamento: Se trata de un medio nutritivo por la presencia de peptona que favorece el desarrollo microbiano, de la misma manera los indicadores de eosina y azul de metileno, permiten la diferenciación entre microorganismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa de los que son incapaces de hacerlo. Muchas cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Citrobacter spp.</i> presentan un brillo metálico característico, mientras que las cepas que utilizan la lactosa se observa un centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras. Otro de los casos son los <i>Enterococcus spp.</i> que crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, en cambio <i>Acinetobacter spp.</i> y otras bacterias oxidativas generan colonias de color azuladas Britania (2017)</p> <p>Por lo tanto, se debe preparar de la siguiente manera:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se debe suspender 36g del polvo en 1000 ml de agua destilada y dejar reposar por 5 minutos. 2. Luego, se coloca en una cocineta y se deja calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta su disolución total. 3. Esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. 4. Distribuir en placas de Petri estériles.

	<p>Interpretación:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Microorganismos fermentadores de lactosa y/o sacarosa: colonias de color negro azulado o amarronado. Pueden tener centro oscuro y brillo metálico. ○ Microorganismos no fermentadores de lactosa y sacarosa: colonias del color del medio, incoloras Britania (2017)
<p>Procedimiento para la preparación de Agar Muller Hinton</p>	<p>Fundamento: Es un medio de cultivo nutritivo y se caracteriza por ser un medio no selectivo, es decir, en él pueden crecer la mayoría de bacterias patógenas. Se ha convertido en el medio estándar para el método Bauer-Kirby, y está especificado por el CLSI y el Comité Europeo de Prueba de susceptibilidad antimicrobiana Bio-Rad (2018)</p> <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. En un recipiente colocamos 38g junto a 1000 ml de agua destilada. 2. Luego se coloca en una cocineta y se deja que se caliente hasta el punto de ebullición para la disolución del medio 3. Luego a eso, se lleva al esterilizador a una presión de 121 ° C durante 15 minutos. 4. Se deja reposar unos minutos y se dispensa en las cajas correspondientes hasta que se enfríen y poder guardarlos en el refrigerador a la temperatura correspondiente Bio-Rad (2018).
<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Bio-Rad. (2018). Mueller-Hinton. 1–4. https://bit.ly/3DxtvA2</p> <p>Britania. (2017). E.M.B. Agar (con Eosina y Azul de Metileno). BritaniaLab. https://bit.ly/3GrJOLP</p> <p>Britania. (2016). Sangre Agar Base. https://bit.ly/3pE6mHh</p> <p>Gateman, S. (2016). BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate). Becton Dickinson GmbH, 27, 8–12. https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=31333</p> <p>Lopardo, D. H. (2016). Urocultivo: Procesamiento, criterios de Interpretación e Informe. Rev. Sanid. Mil. Argent, 84(1), 1–24.</p>

Anexo N° 10. Protocolo para la preparación de pruebas bioquímicas

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<p>PROTOCOLO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA</p>	<p>CODIGO: LCL-PNT-04</p>
		<p>Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc</p>
		<p>Fecha de Elaboración: Enero 2022</p>
		<p>Versión: 001 N° páginas: 10</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA</p>		

PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	<p>Estandarizar los pasos necesarios para la realización de una correcta siembra de la muestra de orina con el fin de garantizar la identificación bacteriana en las pruebas bioquímicas mayormente utilizadas.</p>	Alcance	<p>El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.</p>
Definiciones	<p>La identificación bioquímica es un método que permite determinar la actividad metabólica de las bacterias y a través de ello clasificar a la cepa bacteriana, es decir, a clasificarlo dentro de una taxonomía o grupo ya establecido, con el que tenga la mayor semejanza, la complejidad de este proceso depende del nivel de precisión se pretende conseguir en el transcurso del proceso (López Vargas y Campuzano Maya, 2015).</p>		

Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales para la siembra de la muestra en las diferentes pruebas bioquímicas utilizadas.	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Rotuladores o lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad • Tubos con el medio de cultivo elaborado • Mechero de Bunsen • Gradillas • Fósforo • Palillos de madera
		Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Portaobjetos • Puntas de pipetas • Asas de platino calibrada (0.01ml) • Pruebas Bioquímicas: Catalasa, Coagulasa, Oxidasa, Novobiocina Bilis Esculina, Citrato, SIM, TSI, Urea y Lisina • Contenedor para desechos cortopunzantes
		Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora
		Sustancias biológicas	Muestra a sembrar
		Reactivos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reactivo de Kovacs ▪ Peróxido de hidrógeno al 3% ▪ Cepas Control ▪ Discos de novobiocina ▪ Plasma liofilizado de conejo ▪ EDTA
Protocolos Prueba de Catalasa	<p>Útil para indicar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el citocromo oxidasa, la principal excepción son los <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Procedimiento:</p> <p>1. En una placa portaobjetos se coloca 1 o 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 3%.</p>		

	<p>2. Luego se coloca colonias frescas de 24 horas, en el portaobjetos.</p> <p>3. Agitar la colonia bacteriana en el peróxido de hidrógeno y el reloj hasta observar que produce la reacción.</p> <p>Interpretación: Resultado positivo, la rápida aparición y producción sostenida de burbujas de gas o efervescencia en la placa. Resultado negativo, no hay burbujeo.</p> <p>Precaución: Colonias procedentes de agar sangre y se realiza la catalasa, se debe tener cuidado de no retirar algo de agar con el asa, ya que los eritrocitos del medio contienen la enzima catalasa y de esa manera nos daría un resultado falso positivo.</p>
<p>Prueba de Coagulasa</p>	<p>Dicha prueba se utiliza más comúnmente para diferenciar al <i>S. aureus</i> (coagulasa positivo) de otros estafilococos y micrococos (coagulasa negativos) Pro-Lab Diagnostics (2017).</p> <p>Procedimiento: Técnica en tubo</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Colocar asépticamente 0.5 ml de plasma de conejo reconstituido en el fondo de un tubo estéril, o plasma citratado. 2. Se coloca de 5 a 7 colonias en estudio y mezclar por rotación suave del tubo, evitando remover o agitar el contenido. 3. Luego se traslada el tubo en la incubadora por un tiempo de 4 horas. 4. Examinar el tubo a la primera hora sin agitarlo, solo inclinándolo suavemente. 5. Si después de 4 horas la prueba ha sido negativa, se debe incubar el tubo a temperatura ambiente por 18 horas y leerlo. <p>Interpretación: La reacción es positiva ante cualquier grado de coagulación visible dentro del tubo, es decir, si se observa un coágulo que abarca todo el líquido (coagulación completa) o coágulo que nada en el líquido restante (coagulación parcial) Gil (2019).</p>
<p>Prueba de Oxidasa</p>	<p>Esta reacción se debe por la presencia de un sistema citocromo oxidasa, dado que su presencia va ligada a la producción de catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica Rodríguez (2018).</p> <p>Método indirecto sobre papel</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se colocar un trozo de papel de filtro de oxidasa. 2. Luego, con ayuda de una asa de cultivo se toma unas cuantas colonias, se las extiende en el papel. 3. Observar el cambio de color dentro de 5-10 segundos.

	<p>Interpretación: Resultado positivo, se observa el cambio de color en el papel, es decir viira a un color azul-violeta; Resultado negativo, cuando no hay cambio de color Rodríguez (2018).</p>
<p>Prueba de Novobiocina</p>	<p>Empleada para diferenciar entre los <i>Staphylococcus coagulasa negativo</i> que se pueden dividirse en especies sensibles y resistentes a la novobiocina. Entre las especies resistentes esta <i>S. saprophyticus</i>. Como el 98% de los estafilococos coagulasa negativos aislados en clínica son de las especies <i>S. epidermidis</i> y <i>S. saprophyticus</i> Becton (2017).</p> <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Preparar una suspensión al 0.5 MacFarland en agua destilada o suero fisiológico estéril 2. Se debe hisopar una caja de agar sangre de carnero y colocar el disco de novobiocina.de 5 ug. 3. Incubar la placa en aerobiosis por 18 -24 horas e interpretar. 4. Los halos de 6 -12 mm se consideran como cepas resistentes o <i>S. saprophyticus</i> y halos mayores serán cepas sensibles. <p>Interpretación: Un halo de inhibición de crecimiento menor o igual a 16 mm corresponde a <i>S.saprophyticus</i>. Un halo de inhibición mayor de 16 mm corresponde a otros estafilococos coagulasa negativos (<i>Staphylococcus epidermidis</i>) Becton (2017).</p>
<p>Prueba de Bilis Esculina</p>	<p>Utilizada para el aislamiento e identificación presuntiva de varios microorganismos, puesto que se basa en la capacidad que tienen ciertas bacterias, en particular los <i>Streptococos del grupo D</i> y especies de <i>Enterococcus spp.</i>, de tolerar grandes cantidades concentraciones de bilis. Para detectar esta alta tolerancia se agrega esculina, la cual es hidrolizada si la bacteria se desarrolla, dando como resultado la formación de glucosa y un compuesto denominado esculetina; está a su vez reacciona con los iones férricos para formar un complejo negro. (Vélez, 2015)</p> <p>Preparación del medio de cultivo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. En un recipiente se debe suspender 64,5 g del polvo junto con 1000 ml de agua purificada y se dej reposar 5 minutos 2. Calentar a ebullición hasta su completa disolución. 3. Distribuir en tubos u otros recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos (Britania, 2020) <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Inocular con las cepas bacterianas en estudio haciendo estrías sobre la superficie del pico de flauta e de la placa de agar bilis esculina.

	<ol style="list-style-type: none"> 2. Incubar a 35 °C por 24 a 48 horas en aerobiosis, 3. Controlar periódicamente el cambio de color. <p>Precauciones: Un sobrecalentamiento puede causar un oscurecimiento del medio.</p> <p>Interpretación de resultados: Positivo, si aparece ennegrecimiento del medio por la presencia de <i>Enterococcus spp.</i>, Negativo, ausencia de oscurecimiento del medio de cultivo Britania (2020).</p>
<p>Prueba de Citrato</p>	<p>Según Rossi (2021), indica que sirve para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una cambios en el pH del medio.</p> <p>Preparación del Agar Simmons Citrato:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se suspende 24,2 g del polvo en 1000 ml de agua destilada y se deja reposar por un tiempo de 5 minutos 2. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición durante 1 o 2 minutos para disolución total. 3. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. 4. Enfriar y solidificar en posición inclinada (pico de flauta) Rossi (2021). <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. De un cultivo bacteriano, se toma una colonia aislada con una asa de punta y se siembra en la superficie inclinada del medio, es decir en el pico de flauta del agar. 2. Incubar a 37 °C durante 24 a 48 horas, sin embargo, algunos microorganismos requieren hasta 7 días de incubación. <p>Interpretación: Resultado positivo, cambio de color del medio de verde a azul intenso en el pico de flauta, por viraje del indicador de pH, azul de bromotimol. Resultado negativo, no hay cambio de color ni crecimiento bacteriano en el medio de cultivo.</p>
<p>Prueba del Sulfuro Indol Motilidad (SIM)</p>	<p>Medio semisólido utilizado para la identificación de movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno por las bacterias, ya que son reductoras de sulfato produciendo sulfhídrico el cual reacciona con el amonio ferroso y se produce un sulfato ferroso (H₂S) que se forma como un precipitado oscuro alrededor de la línea de inoculación. El medio contiene caseína rica en triptona la cual es usada por ciertos microorganismos quienes finalmente producen indol, el cual es revelado por el reactivo KovacS, dando lugar a</p>

	<p>una coloración rojo-púrpura. La movilidad es visible y siendo positivo el crecimiento se ve por fuera de la línea de siembra, en forma de turbidez alrededor del canal de siembra Cedeño (2018).</p> <p>Preparación del Agar de SIM:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Primeramente, se dispensa 30 g del polvo en 1000 ml de agua purificada y se deja reposar por unos minutos. 2. Luego, se calienta, mezclando frecuentemente y se lleva a hervir por 1 minuto para disolución total. 3. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos Britania (2016) <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Inocular colonias aisladas provenientes de cultivos asépticos, mediante punción profunda utilizando aguja de inoculación recta, se debe realizar la siembra. 2. La inoculación se debe hacer en el centro del tubo, y la punción debe abarcar 2 tercios de profundidad del medio de cultivo desde la superficie, teniendo precaución al no tocar el fondo del medio, ni realizar movimientos bruscos con la asa durante la siembra. 3. Para la prueba del Indol, se debe añadir 4 o 5 gotas de reactivo Kovacs, resbalando por la pared del tubo sin agitar. <p>Interpretación:</p> <p>Movilidad: resultado positivo, el medio de vuelve turbio o crecimiento más allá de la línea de siembra; resultado negativo, los microorganismo crecen solamente en la línea de siembra Britania (2016).</p> <p>Producción de SH2: resultado positivo, el medio de cultivo cambia a una coloración negra, ya sea en la línea de inoculación o en todo el medio; resultado negativo, no hay cambios de color en el medio Britania (2016).</p> <p>Prueba del Indol: Agregar al medio de cultivo 3 a 5 gotas del reactivo Kovacs, resultado positivo, cambio de color a rojo; resultado negativo, permanece incoloro-amarillento Britania (2016).</p>
<p>Prueba de Triple Azúcar Hierro (TSH)</p>	<p>Basado en la fermentación de carbohidratos (sacarosa, lactosa y dextrosa) y la producción de ácido sulfhídrico, como el <i>Proteus</i> y <i>Citrobacter</i> que son fermentadores de la sacarosa, se puede enmascarar el indicador de sulfhídrico en el medio. Por ello el agar contiene tres azúcares: dextrosa, lactosa y sacarosa; rojo de fenol para detectar la fermentación de estos carbohidratos, y sulfato ferroso para la producción de ácido sulfhídrico, dicha fermentación se manifiesta por un cambio de color que vira de</p>

anaranjado-rojizo a amarillo, o por un viraje a rojo intenso en caso de alcalinización. El tiosulfato es reducido por algunos gérmenes a ácido sulfhídrico, el cual reacciona con la sal férrica produciendo sulfuro de hierro de color negro Gil (2019a).

Preparación del Agar de TSI:

1. Pesar 64,6 gr del medio agar TSI deshidratado y disolver en un litro de agua destilada.
2. Caliente hasta disolver completamente el agar.
3. Hervir por un minuto agitando frecuentemente.
4. Distribuir 4 ml del medio en tubos de ensayo.
5. Esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.
6. Verter el medio en tubos y dejar reposar de forma inclinada, formándose el pico de flauta, teniendo en cuenta que tanto la base como el pico deben tener la misma distancia.
7. Almacenar en nevera 2 - 8°C.
8. Dejar atemperar antes de sembrar la cepa bacteriana Condalab (2019).

Procedimiento:

1. A partir de un cultivo puro, sembrar en TSI, una colonia bien aislada.
2. La inoculación se realiza picando en la capa profunda hasta unos 3 - 5 mm del fondo del tubo, se retira el asa delicadamente y se estría 1 superficie inclinada con un movimiento de ida y vuelta.
3. Incubar a 35 a 37 °C por 24 horas.

Interpretación: Para leer las reacciones en el tubo se anota primero la del pico de flauta y en segundo lugar del fondo existiendo las siguientes posibilidades:


- **A:** ácido = coloración amarillenta; **K:** alcalino = coloración roja
- **A/A:** Microorganismos fermentadores de glucosa, lactosa y sacarosa.
- **A/A (g):** Fermentan glucosa, lactosa y sacarosa más producción de gas, observación de burbujas o resquebrajamiento del medio.
- **A/A, SH₂:** Fermentan glucosa, lactosa y sacarosa más producción de gas sulfhídrico, por el ennegrecimiento del medio.
- **K/A:** Fermentan glucosa y no de sacarosa ni de lactosa
- **K/A (g):** Fermentan glucosa y no sacarosa ni lactosa más producción de gas.

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ K/A, SH₂: Fermentan glucosa y no sacarosa ni lactosa más producción de SH₂. ▪ K/K: No fermenta ninguna de las tres azúcares.
<p>Prueba de la Urea</p>	<p>La urea es una diamida de ácido carbónico, todas las amidas se hidrolizan fácilmente, con liberación de amoníaco y dióxido de carbono. La enzima ureasa forma parte de muchas especies de bacterias que pueden hidrolizar la urea. Por lo tanto, su hidrolización forma dióxido de carbono y amoníaco, este último proporciona reacción alcalina al medio, que puede comprobarse por el viraje del amarillo al rojo púrpura del indicador de pH rojo fenol contenido en el medio Delgado y Álzate (2020).</p> <p>Preparación del Agar de Urea:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Suspender 24 g del polvo en 950 ml de agua purificada. 2. Dejar reposar 5 minutos. 3. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición para disolución total. 4. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. 5. Enfriar a 50 °C y agregar 50 ml de una solución de urea al 40% previamente esterilizada por filtración o cloroformo. 6. Fraccionar en tubos y dejar solidificar el medio en pico de flauta con fondo profundo Rossi (2021a) <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tomar una colonia del medio e inocularla en el agar urea inclinado. 2. No insertar el inóculo en la base del agar inclinado, puesto que sirve como control de color. 3. Incubar a 35°C de 18 a 24 horas con la tapa aflojada, examinar reacciones después de 2, 4, 6 y 24 horas, y luego diariamente hasta por 6 días. <p>Interpretación: Los microorganismos que hidrolizan la urea rápidamente pueden producir reacciones positivas en 1 o 2 horas; mientras que las especies menos activas requieren tiempos más largos de hasta 3 días o más.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Degradadores rápidos de la urea (<i>Proteus spp.</i>): Coloración roja del medio. ▪ Degradadores lentos de la urea (<i>Klebsiella spp.</i>): Coloración roja sólo en el pico de flauta, que poco a poco se extiende en todo el medio. ▪ Ausencia de hidrólisis de urea: Coloración original del medio, es decir mantiene su color amarillo Delgado y Álzate (2020).

<p>Prueba de la Lisina</p>	<p>El medio está constituido por peptona y extracto de levadura, son quienes aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano, los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio y provocan el viraje del color púrpura al amarillo, favoreciéndose la actividad enzimática decarboxilasa y metabolizándose la lisina a cadaverina, y así elevando el pH del medio de cultivo y tornándolo al color púrpura o violeta. Mientras que los microorganismos fermentadores de glucosa que no tienen actividad lisina decarboxilasa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al color amarillo. Es por ello que a las 24 horas de incubación se observa el fondo del tubo color amarillo y la superficie de color violeta debido al consumo de las peptonas que producen alcalinidad; la generación de sulfuro de hidrógeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro Ñuñoa (2017).</p> <p>Preparación del Agar de Lisina:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vamos a suspender 35 g del polvo en 1000 ml de agua purificada, se deja reposar por 5 minutos. 2. Calentar agitando con frecuencia y hervir durante un minuto hasta la disolución completa. 3. Distribuir en tubos y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. 4. Enfriar y dejar solidificar en posición inclinada (pico de flauta profundo). <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tomar con un asa de punta una colonia aislada y estriar en la superficie inclinada y picar en la capa profunda sin tocar el fondo del tubo. 2. Se incuba 24 horas a 35 °C, posterior a ello se anota los resultados. <p>Interpretación:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Decarboxilación de la lisina: Resultado positivo: pico de coloración violeta y fondo violeta. Resultado negativo: pico violeta y coloración amarillenta en el fondo ▪ Desaminación de la lisina: Resultado positivo: Superficie color rojiza y profundidad ácida, como en <i>Proteus</i> y <i>Providencia</i> ▪ Producción de SH₂: Resultado positivo: el medio de cultivo cambia de color – ennegrecimiento. Resultado negativo: no existe cambio alguno en el medio de cultivo permanece intacto Ñuñoa (2017).
-----------------------------------	--

<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Becton. (2017). <i>Discos de novobiocina BBL Taxo para diferenciación</i>. Dickinson and Company. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/Prueba de Novobiocina.pdf</p> <p>Britania. (2016). Medio SIM. <i>Laboratorio Britania S. A.</i>, 1–2. http://www.britanialab.com/productos/B02131_REV_01-SIM_MEDIO.pdf</p> <p>Britania. (2020). Bilis Esculina Agar. <i>Britania</i>, 1–2. https://bit.ly/3pAFyri</p> <p>Cedeño, D. J. (2018). Medio de Cultivo SIM. <i>Laboratorio Medibac</i>, 4–5. https://bit.ly/3rKltS5</p> <p>Condalab. (2019). <i>Agar Hierro y Triple de Azucar (TSI) Test microbiológico</i>. 5–6. https://bit.ly/3Dzlg6o</p> <p>Delgado, E., & Álzate, A. M. (2020). Series de identificación bioquímica (UREA , CITRATO , LISINA , SIM Y TSI). <i>Medios de Diagnóstico Microbiológico - Científica</i>, 4. https://bit.ly/3y4tylG</p> <p>Gil, M. (2019a). <i>Agar TSI: Fundamento, preparación y usos</i>. Lifeder. https://www.lifeder.com/agar-tsi/</p> <p>Gil, M. (2019b). <i>Prueba de la coagulasa: fundamento, procedimiento y usos</i>. Lifeder. https://www.lifeder.com/prueba-de-la-coagulasa/</p> <p>Ñuñoa, S. (2017). Agar LIA (Agar de Hierro y Lisina). <i>Insumolab</i>, 3. https://bit.ly/3y3j5qO</p> <p>Pro-Lab Diagnostics. (2015). Coagulase Plasma (para uso en Diagnóstico in vitro). <i>Round Rock</i>, 10–13. https://bit.ly/3GmfPcY</p> <p>Rodríguez, F. (2018). <i>Prueba de la oxidasa</i>. Laboratorio Clínico y Biomédico. https://www.franrzmn.com/prueba-de-la-oxidasa/</p> <p>Rossi, B. A. (2021a). Christensen Medio (Urea Agar Base). <i>Laboratorios Britania S. A.</i>, 3. https://bit.ly/31vMePG</p> <p>Rossi, B. A. (2021b). Simmons Citrato Agar. <i>Laboratorios Britania S. A.</i>, 2. https://bit.ly/3DuJVJj</p> <p>Vélez, D. J. C. (2015). <i>Medio de cultivo BILIS ESCULINA</i>. MEDIBAC Laboratorio. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/Prueba de Novobiocina.pdf</p>
--	---

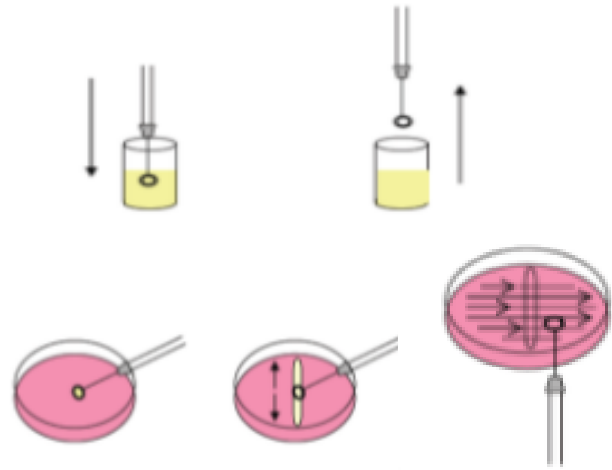
Anexo N° 11. Protocolo para la siembra de muestras de orina

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	PROTOCOLO PARA LA SIEMBRA DE MUESTRAS DE ORINA	CODIGO: LCL-PNT-05
		Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		Fecha de Elaboración: Enero 2022
		Versión: 001 N° páginas: 3
ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		

SIEMBRA DE MUESTRAS DE ORINA EN MEDIOS DE CULTIVO

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivo	<p>Estandarizar los pasos necesarios para realizar una correcta siembra de la muestra y de esa manera poder obtener las colonias aisladas en los diferentes medios de cultivo.</p>	Alcance	<p>El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.</p>
Definiciones	<p>Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación, luego de sembrar se procede a incubar a una temperatura adecuada para el crecimiento bacteriano; el método más usual para la siembra es la técnica de estría en la cual podemos obtener colonias aisladas en una placa Petri a partir de un inóculo o muestra con diferentes especies Lopardo (2016). Además, indica que una colonia bacteriana es una agrupación de bacterias formada a partir de la reproducción de una Unidad Formadora de Colonia (UFC) sobre un medio sólido; aunque varía de tamaño y generalmente es visible a simple vista, se puede distinguir varios aspectos como forma, elevación, borde, tamaño, color Lopardo (2016).</p>		
Acciones preliminares	<p>Verificar que se disponga todos los materiales para la</p>	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Rotuladores o lápiz graso • Guantes de nitrilo

	<p>siembra y el conteo de colonias en los medios de cultivo mencionados anteriormente.</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro y traje protector interno) • Cajas Petri con el medio de cultivo elaborado • Mechero de Bunsen • Gradillas • Fósforo
		Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Asas de platino calibrada (0.01ml)
		Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora
		Sustancias biológicas	Muestra a sembrar
<p>Procedimiento</p> <p>Técnica de dilución con asa calibrada</p> <p>Método de KASS</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Todos los cultivos deben realizarse en una Cámara de Seguridad Biológica (CSB, para mayor precaución. 2. Si el urocultivo no se realiza una vez tomada la muestra, mantener la misma en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento. 3. Todos los medios de cultivo deben estar temperados al menos 2 horas antes de su utilización. 4. Se deben rotular las cajas con la identificación de cada paciente. 5. Luego, se enciende el mechero Bunsen. 6. Seguidamente, se procede a esterilizar el asa de siembra pasándola por el mechero hasta que ésta se ponga de color rojo y dejarla enfriar evitando que se contamine. 7. Posteriormente, se homogeniza el frasco con la muestra de orina realizando movimientos de inversión sobre una superficie plana. 8. Se destapa el frasco e introducimos el asa de forma vertical, una vez que la orina se haya fijado en el arco de la asa, retiramos cuidadosamente. 9. Se retira el asa y se deja tapando el frasco con la muestra de orina 10. Luego, pasamos a inocular en el medio, colocando la muestra del asa en el centro de la placa con agar sangre, MacConkey, E.M.B y a partir de ese punto se extiende la muestra de lado a lado de la caja. 11. Sin esterilizar de nuevo la asa ni tomar más muestra con ella, se debe extender la muestra en forma de Zig – Zag por toda la caja, contando 5 estrías en total. 		



12. Una vez terminada la siembra esterilizar el asa y cerrar la caja Petri y colocarla con la parte que tiene el medio de cultivo hacia arriba.
13. Se procede a incubar las cajas a 37° C durante 24 horas.
14. Si una vez pasadas las 24 horas no hay crecimiento bacteriano, incubar hasta 48 horas.
15. Proceder a realizar el recuento de colonias y multiplicar el resultado por 100 (debido a que el asa de platino contiene 0.01 ml de orina) para poder obtener las UFC/ml

$$\text{UFC/ml} = \text{N}^\circ \text{ colonias en la caja} \times 100$$

16. Los resultados del estudio cuantitativo se informan de la siguiente manera:
 - No hubo desarrollo microbiano.
 - Menos (<) 100 000 colonias/ml.
 - Entre 10 000 y 100 000 colonias/ml.
 - Más de (>) 100 000 colonias/ml (Cabezas et al., 2018)

Referencias bibliográficas

- Cabezas, L., Calata, L., Gutiérrez, C., Outeda, M., Palacio, R., & Seija, V. (2018). Manual de recolección, procesamiento e interpretación de cultivos en muestras clínicas obtenidas para estudio bacteriológico. *Interpretación Del Antibiograma En La Práctica Clínica Diaria*, 1–77. <https://redemc.net/campus/wp-content/uploads/2018/03/ATB-01-Seija-Manual-muestras-ES-PUB.pdf>
- Lopardo, D. H. (2016). Urocultivo: Procesamiento, criterios de Interpretación e Informe. *Rev. Sanid. Mil. Argent*, 84(1), 1–24.

Anexo N° 12. Protocolo para la realización del antibiograma mediante la técnica de Kirby Bauer

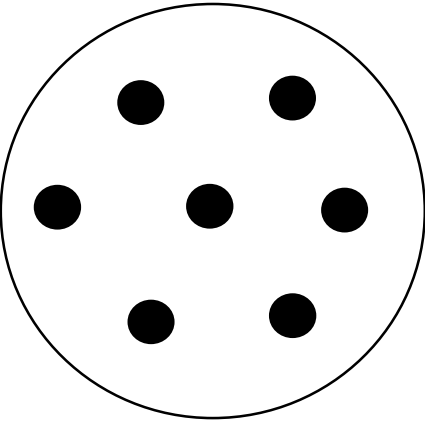
 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<p>ANTIBIOGRAMA MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER.</p>	<p>CODIGO: LCL-PNT-06</p>
		<p>Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc</p>
		<p>Fecha de Elaboración: Enero 2022</p>
		<p>Versión: 001 N° páginas: 5</p>
<p>AREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</p>		

ANTIBIOGRAMA MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	Definir el protocolo a seguir para la realización de ensayos de resistencia y sensibilidad de un cultivo bacteriano a los antibióticos, usando el método de Kirby Bauer, garantizando que el antibiograma sea efectuado de la manera correcta.	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	El método de Kirby Bauer consiste en inocular el microorganismo en la superficie de una caja de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las cajas se incuban por 18 a 24 horas a 37 °C, donde el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar. En un punto determinado, la concentración del antibiótico es incapaz de inhibir al germen en estudio y el diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente de acuerdo a tablas publicadas por Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI). (Rodríguez et al., 2017)		


Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales para la realización del antibiograma a los medios de cultivo que se va a analizar.	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Rotuladores o lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro y traje protector interno) • Cajas Petri • Mechero de Bunsen • Gradillas • Fósforo • Pinzas metálicas
Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Suero fisiológico • Asas de platino calibrada (0.01ml) • Discos de antibióticos 	Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora • Agitador Vortex • Refrigerador
		Sustancias biológicas	Muestra de orina
Preparación del Agar Muller Hilton	<p>Fundamento: Medio de cultivo nutritivo caracterizado por ser un medio no selectivo, es decir, en él pueden crecer la mayoría de bacterias patógenas. Se ha convertido en el medio estándar para el método Bauer-Kirby, especificado por el CLSI y el C. Europeo de Prueba de susceptibilidad antimicrobiana Bio-Rad (2017)</p> <p>Composición del Agar:</p> <p>El medio Mueller Hinton, se encuentra compuesto por:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Infusión de carne buey deshidratada 2 - Hidrolizado de caseína 17,5 - Almidón 1,5 - pH 7,3 ± 0,1 - Ca²⁺ 20-25mg/L - Mg²⁺ 10-12,5 mg/L Rossi (2021). <p>Procedimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Agregue 38g del agar a 1 litro de agua destilada. 2. Luego disolver el agar pesado en el agua destilada, mezclando cuidadosamente. 3. Hacer hervir en la hornilla eléctrica durante unos minutos disolviendo todo el agar hasta que la preparación sea de un aspecto transparente. 4. Colocar un tapón o corcho de algodón en el matraz. 5. Esterilizar en autoclave a 121 ° C durante 15 minutos. 6. Retirar de la autoclave y dispensar en la cabina de bioseguridad previamente realizando una limpieza de la zona de trabajo del equipo para evitar la contaminación del agar. 		

	<p>7. Enfriar a 45-50°C y distribuir en placas petri estériles colocadas sobre una superficie horizontal nivelada para obtener una profundidad uniforme de aproximadamente 4mm.</p> <p>8. Dejar enfriar las cajas con agar hasta que se solidifiquen y guardar en el refrigerador en fundas plásticas indicando la fecha de elaboración y la cantidad del material.</p> <p>Almacenamiento:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Medio de cultivo deshidratado de 10 a 35 °C. - Medio de cultivo preparado de 2 a 8 °C. <p>Estabilidad: El material preparado debe ser de acuerdo a la cantidad de muestras a procesar; debido a que los agares son viables hasta los 7 días de preparación. Si las placas se van a guardar más del periodo estipulado, puede ser necesario conservarlas a 4-8°C en bolsas de plástico cerradas herméticamente.</p> <p>Observaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Es recomendable dejar una caja de cada lote de agares preparados en la incubadora para control de calidad. ▪ El pH es de 7,2 o 7,3, no debe modificarse, puesto que un pH bajo antibióticos como los aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos parecerán menos activas, observándose halos más pequeños y posibles falsas resistencias, mientras que para tetraciclina puede tener mayor actividad, es decir halos grandes y falsas sensibilidades y de lo contrario con pH alto se espera el efecto opuesto. ▪ El grosor adecuado del medio debe ser de 4 mm, ya que si es muy pequeño la difusión de los antibióticos será mayor y si es muy grueso será menor, por lo que provocará una lectura de falsas sensibilidades o falsas resistencias. ▪ Las cajas no deben estar expuestas a la humedad, por lo que los antibióticos de los discos difundirán en todo el medio y se podrá observar halos inespecíficos o muy pequeños. ▪ La variación de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺ afectan los resultados de la actividad de los aminoglucósidos y tetraciclina, puesto que un valor elevado de cationes afecta en la disminución de los halos de inhibición, mientras que un valor menor de cationes provoca una zona de inhibición falsa (Araya et al., 2016).
<p>Preparación del inóculo por medio de la técnica de suspensión directa de colonias</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tomar con un hisopo previamente estéril una colonia bacteriana del medio inicial (preferiblemente del agar sangre) de 18 a 24 horas. 2. Diluirla en 3ml de suero fisiológico. 3. Medir la densidad en el densitómetro hasta que alcance 0.5 en la escala de McFarland. 4. Agitar en el vortex durante 15 a 20 segundos.
<p>Inoculación de las placas</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Antes que pasen 15 minutos se debe de introducir un hisopo dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo, con el propósito de eliminar el exceso de inóculo.

	<ol style="list-style-type: none"> 2. Inocular las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre, mediante la declinación del hisopo por la superficie del agar tres veces, rotando la caja 60° cada vez y pasándola finalmente por la periferia del agar para lograr un estriado sin espacios algunos. 3. Dejar secar de 3 a 5 min antes de depositar los discos. (Arendrup et al., 2020)
Dispensación de Discos	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se ubica los discos presionando de manera suave el agar y f cada vez que coja otro disco se debe flamear la pinza. 2. Todos los discos colocados en el agar deben estar a una distancia considerada para que los halos no se crucen ni se superpongan. 3. En las cajas de 150 mm se den colocar alrededor de 12 discos y en las cajas de 100 mm máximo 6 discos. 4. Si el disco ya fue colocado en un cierto lugar dentro del agar, no se puede volver a relocalizarlo, ya que puede existir halos de inhibición erróneos. 5. Una vez colocados todos los antibióticos en el medio, se procede a incubar las cajas en forma invertida por un tiempo aproximado de 18 a 24 horas a una temperatura de 37 °C en atmósfera aeróbica para microorganismos no fastidiosos y para bacterias anaerobias facultativas incubar en atmósfera con 5% de CO₂. 6. Una vez trascurrido el tiempo, se mide el diámetro de inhibición con una regla milimetrada (EUCAST, 2015). 7. Comparar las mediciones con las tablas del manual del CLSI M100-S28 <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Figura 2: Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo (Arendrup et al., 2020)</p> <ol style="list-style-type: none"> 8. Según el criterio del CLSI y sus tablas rigen tres criterios de reporte: <ol style="list-style-type: none"> a. Sensibles: las bacterias que en dosis habituales del respectivo antimicrobiano son inhibidas. b. Sensibilidad Intermedia: cuando puede esperarse eficacia clínica en aquellas localizaciones que se alcanzan concentraciones altas del antimicrobiano o cuando se elevan dosis más elevadas de lo habitual.

	<p>c. Resistente: cuando las bacterias no se inhiben por las concentraciones adecuadas habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del antimicrobiano (Arendrup et al., 2020)</p>
<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Araya, I. D., Prat, S. M., & Ramírez, M. V. (2016). Recomendaciones para el control de calidad en bacteriología: Estudio de susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión por disco. <i>Instituto de Salud Pública Chile</i>, 1(1), 1–17. https://bit.ly/3AEpiuG</p> <p>Arendrup, M. C., Friberg, N., Mares, M., Kahlmeter, G., Meletiadis, J., Guinea, J., Andersen, C. T., Arikian-Akdagli, S., Barchiesi, F., Chryssanthou, E., Hamal, P., Järv, H., Klimko, N., Kurzai, O., Lagrou, K., Lass-Flörl, C., Matos, T., Muehlethaler, K., Rogers, T. R., & Velegriaki, A. (2020). How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). <i>Clinical Microbiology and Infection</i>, 26(11), 1464–1472. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.007</p> <p>Bio-Rad. (2014). <i>Mueller-Hinton</i>. 1–4. https://bit.ly/3g14ILj</p> <p>EUCAST. (2015). Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos Método de difusión con discos. <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing -European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</i>, 4(June), 18. https://bit.ly/3u4dIrt</p> <p>Rodríguez, S. C., Recalde, R. D., & Padilla-Sanabria, L. (2017). Análisis del uso de antibióticos en antibiogramas de urocultivos realizados por un laboratorio clínico de la región centro-occidental de Colombia. <i>Universidad y Salud</i>, 19(3), 378–387. https://doi.org/10.22267/rus.171903.100</p> <p>Rossi, B. A. (2021). <i>Mueller Hinton Agar (MHA)</i>. Britania. https://bit.ly/3o2dmOi</p>

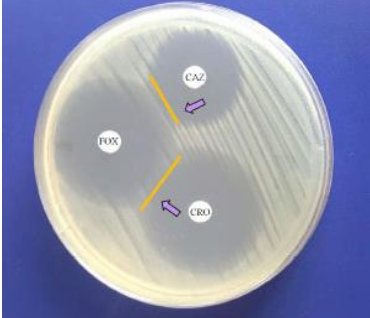
Anexo N° 13. Protocolo para la detección fenotípica de betalactamasas

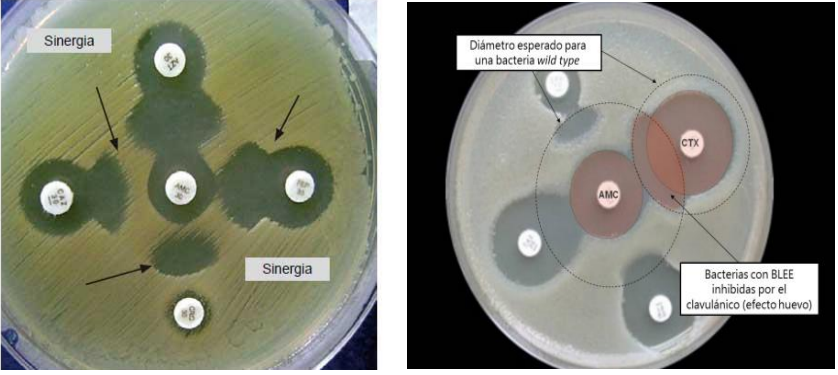
 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<p>PROTOCOLO PARA LA DETECCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS</p>	<p>CODIGO: LCL-PNT-07</p>
		<p>Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc</p>
		<p>Fecha de Elaboración: Enero 2022</p>
		<p>Versión: 001 N° páginas: 4</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA</p>		

DETECCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS


Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivo	Establecer los procedimientos para la detección fenotípica de β -lactamasas de manera correcta.	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	<p>La producción de B-lactamasas es uno de los más importantes mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos, por lo que se han implementado distintas estrategias cuyo objetivo es neutralizar su acción. En este sentido, el uso de inhibidores de B-lactamasas constituye uno de los desarrollos más importantes, entre los cuales existen tres inhibidores de B-lactamasas comercialmente disponibles: ácido clavulánico (AMC), sulbactam (SAM), y tazobactam (TAZ) (Lozano, 2021). Ciertas asociaciones como amoxicilina-ácido clavulánico presentan actividad a ciertas enterobacterias, incluso las resistentes a la amoxicilina por producción de betalactamasas de amplio espectro como TEM-1, TEM-2 o SHV-1, estas betalactamasas hidrolizan penicilinas y son sensibles a los inhibidores de betalactamasa (Yahav et al., 2021).</p> <p>También ciertas oxacilinasas, entre las cuales, la OXA-1 confieren resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas siendo insensibles a la acción de los inhibidores de betalactamasa de clase A como el ácido clavulánico y, en su gran mayoría no tienen actividad sobre el resto de betalactámicos (Yahav et al., 2021).</p>		
Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales para la	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Rotuladores o lápiz graso • Guantes de nitrilo • Kit de bioseguridad

	siembra y el conteo de colonias en los medios de cultivo mencionados anteriormente.		<ul style="list-style-type: none"> • Cajas Petri con el medio de Mueller Hinton • Mechero de Bunsen • Gradillas • Fósforo • Pinzas metálicas 																											
		Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Asas de platino calibrada (0.01ml) • Discos de antibióticos • Contenedores para desechos cortopunzantes, especiales, comunes e infecciosos 																											
		Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora • Refrigerador 																											
		Sustancias biológicas	Cultivos con crecimiento bacteriano																											
Identificación de hiperproducción de β-lactamasas de espectro ampliado (BLEA)	Su identificación se sigue el mismo procedimiento para la realización del antibiograma (Anexo N° 10), simplemente según Córdova (2017), una cepa que produce betalactamasas de tipo BLEA, presentara resistencia a aminopenicilinas (amoxicilina y ampicilina) y a carboxipenicilinas (carbenicilina y ticarcilina), además de mantener la sensibilidad a las cefalosporinas de primera generación, piperacilina y combinación de betalactamicos/inhibidor de betalactamasas.																													
Interpretación de resultados para la determinación de BLEA	<p>Se lo realiza en base a la siguiente tabla:</p> <table border="1" data-bbox="505 1434 1531 1602"> <thead> <tr> <th>Fenotipo</th> <th>AMP</th> <th>AMC</th> <th>PIP</th> <th>C1G</th> <th>FOX</th> <th>C3G</th> <th>C4G</th> <th>CARB</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BLEA</td> <td>R</td> <td>S</td> <td>r</td> <td>S</td> <td>S</td> <td>S</td> <td>S</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Hiperproducción de BLEA</td> <td>R</td> <td>S/I/R</td> <td>R</td> <td>R</td> <td>S</td> <td>S</td> <td>S</td> <td>S</td> </tr> </tbody> </table> <p>AMP: ampicilina; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; PIP: piperacilina; C1G: cefalosporinas de primera generación; C3G: cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos; C4G: cefalosporinas de cuarta generación; CARB: carbapenemes; FOX: cefoxitina; I: intermedio; R: resistente; S: sensible; r: halos reducidos o CIM elevadas, pero dentro del rango de sensibilidad (Calvo et al., 2015); (Córdova, 2017).</p>			Fenotipo	AMP	AMC	PIP	C1G	FOX	C3G	C4G	CARB	BLEA	R	S	r	S	S	S	S	S	Hiperproducción de BLEA	R	S/I/R	R	R	S	S	S	S
Fenotipo	AMP	AMC	PIP	C1G	FOX	C3G	C4G	CARB																						
BLEA	R	S	r	S	S	S	S	S																						
Hiperproducción de BLEA	R	S/I/R	R	R	S	S	S	S																						

<p>Determinación de β-lactamasas de tipo AmpC mediante el método de aproximación de discos</p>	<p>Según el CLSI, no hay métodos fenotípicos estandarizados para la identificación correcta de dicho mecanismo de resistencia, sin embargo, se han elaborado varias metodologías con una elevada sensibilidad.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se realiza un antibiograma convencional, con la escala 0,5 McFarland. 2. Luego, se coloca un disco de cefoxitin o cualquier otro antibiótico que actúe como inductor a 27 mm de distancia de centro a centro de una ceftazidima y ceftriaxone o cefotaxime, que actúan como antibióticos de sustrato, revelador o testigo (Monterroso et al., 2019).
<p>Interpretación de resultados para AmpC mediante el método de aproximación de discos</p>	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>Positivo: Cuando se observa un halo de inhibición truncado entre los tres antibióticos.</p> <p>Negativo: Cuando no se evidencia dicho efecto o la presencia del halo de inhibición (Monterroso et al., 2019)</p> </div> </div>
<p>Determinación de BLEE mediante sinergia de discos</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Primeramente, tener que tener listo todos los materiales que se usaran. 2. Después, con un rotulador se coloca la identificación o los respectivos nombres a la caja Petri con Agar Mueller – Hinton. 3. Con un hisopo estéril, se toma una colonia del cultivo y pasamos a dispensarla en la solución salina. 4. Se prende el densitómetro, para medir la turbidez del inculo, siendo igual a 0,5 en la escala McFarland. 5. Impregnar el hisopo estéril con la suspensión bacteriana, escurrirla contra la pared del tubo y sembrar con ella toda la superficie de las placas de agar Mueller-Hinton mediante estrías cruzadas en varias direcciones. 6. Dejar reposar de 3 a 5 minutos. 7. A continuación, se colocan los discos utilizando una pinza previamente flameada, fría y colocar los discos de cefotaxime, ceftazidime, cefepime, aztreonam y amoxicilina/ácido clavulánico; a una distancia de 20 a 25 mm, tomando la referencia de centro a centro de un disco con amoxicilina-ácido clavulánico. 8. Finalmente se coloca en la incubadora con una temperatura de 35°C y se realiza la lectura dentro de las 18 a 24 horas siguientes Mihquero (2018)
<p>Interpretación de resultados para BLEE mediante Sinergia de discos</p>	<p>Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición, para ello los resultados se interpretan de la siguiente manera:</p> <p>Positivo. Se va observar una ampliación entre el halo de cefotaxime, ceftazidime, cefepime en la zona próxima al disco con amoxicilina-ácido clavulánico (sinergia) o la presencia de una zona fantasma, sin crecimiento alguno entre el inhibidor y las cefalosporinas. Usualmente el halo se deforma adquiriendo formas ovaladas o con cola de pescado (García et al., 2016).</p>

	 <p>Negativo. No ampliación de los halos de inhibición de cefotaxime, ceftazidime, o cefepime ni presencia de "zona fantasma" Mihquero (2018).</p>
<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Córdova, D. E. (2017). Resistencia en bacilos Gram Negativos. <i>Oceano Medicina, 1</i>, 1–56.</p> <p>Calvo, J., Cantón, R., Fernández, F., Mirelis, B., & Navarro, F. (2015). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. In <i>SEIMC</i>.</p> <p>García, C., Astocondor, L., & Banda, C. (2016). Enterobacterias productoras de b-lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. <i>Acta Médica Peruana, 29</i>(3), 163–169. https://bit.ly/3Ca6J4a</p> <p>Morales, P. G. I., Castro, A. G., Mendoza, B. Y. C., Rubiano, O. L. A., & Pacheco, V. J. M. (2017). Una mirada rápida al control de calidad interno en el quehacer diario del laboratorio de microbiología. <i>Medicina & Laboratorio, 23</i>(9–10), 459–474. https://doi.org/10.36384/01232576.24</p> <p>Mihquero, K. D. (2018). <i>Susceptibilidad antimicrobiana de Klebsiella spp causante de infecciones de vías urinarias en usuarios del Laboratorio Clínico de MEDILAB</i>. https://bit.ly/3SVmvWH</p> <p>Lozano, D. C. (2021). Nuevos inhibidores de betalactamasas : actualidad y aplicación en la práctica New beta-lactamase inhibitors : current status and application in practice. <i>12</i>(1), 41-55. https://doi.org/10.17533/udea.hm.v12n1a05</p> <p>Yahav, D., Giske, C. G., Gramatniece, A., Abodakpi, H., Tam, V. H., & Leibovici, L. (2021). New β-lactam-β-lactamase inhibitor combinations. <i>Clinical Microbiology Reviews, 34</i>(1), 1-61. https://doi.org/10.1128/CMR.00115-20</p>

Anexo N° 14. Protocolo para la activación y conservación de cepas control ATCC

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<p>PROTOCOLO PARA LA ACTIVACIÓN Y CONSERVACIÓN DE CEPAS CONTROL ATCC</p>	<p>CODIGO: LCL-PNT-08</p>
		<p>Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc</p>
		<p>Fecha de Elaboración: Enero 2022</p>
		<p>Versión: 001 N° páginas: 3</p>
<p>ÁREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA</p>		


ACTIVACIÓN Y CONSERVACIÓN DE CEPAS CONTROL ATCC

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	Establecer el procedimiento a realizar para la activación y conservación de las cepas control <i>E. coli</i> ATCC 25922 y <i>S. aureus</i> ATCC 25923	Alcance	El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.
Definiciones	Los microorganismos KWIK-STIK™, están previstos para ser usados como controles para verificar el funcionamiento de análisis, reactivos o medios de cultivos destinados a pruebas microbianas para la detección e identificación de cultivos de microorganismos, todos estos procesos son controlados y verificados por la American Type Culture Collection (ATCC) u otra organización a cargo de cepas control de cultivos de referencia (Disk, 2016).		
Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales necesario para la activación y conservación de las cepas control ATCC.	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Lápiz graso • Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro, guantes y traje protector interno) • Mechero de Bunsen • Gradillas • Fósforo • Pinzas metálicas

Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Suero fisiológico • Asas de platino calibrada (0.01ml) • Glicerina líquida 	Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora • Refrigerador • Congelador
		Sustancias y Reactivos	Medios de cultivos con crecimiento bacteriano de las cepas control ATCC <ul style="list-style-type: none"> - Agar Sangre - Agar Manitol - Agar E.M.B - Agar MacConkey
Composición y descripción del producto control	<p>“Los gránulos KWIK-STIK™ contienen una población pura de los microorganismos y excipientes a los fines de la estructura y estabilidad que incluyen gelatina, leche descremada, ácido ascórbico, carbohidrato y carbón” de esa manera indica (Microbiologics, 2021). Entonces cada una de las bolsas que contienen las cepas control traen un gránulo liofilizado de un microorganismo específico, una ampolla de líquido hidratante y un hisopo de inoculación, por lo que cada dispositivo está sellado dentro de una bolsa laminada que contiene material desecante para evitar la acumulación perjudicial de humedad. Dichos microorganismos son efectivos para el cultivo de referencia bacteriana (Microbiologics, 2021).</p>		
Procedimiento de activación	<ol style="list-style-type: none"> 1) Dejar que la bolsa con las cepas control se temperen. 2) Abrir la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quitar la unidad de KWIK-STIK. 3) Retirar la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colocarla a la placa de cultivo principal o al registro de Control de Calidad. 4) Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante. 5) Mantener de forma vertical el vial y golpearlo suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo. 6) Apretar la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea. 7) De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transfíralo al medio con agar correspondiente o utilizarlo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio. 8) A continuación, se debe inocular a la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa. 		

	<p>9) Después con la ayuda de un asa esterilizada, se debe realizar estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.</p> <p>10) Una vez terminada la inoculación de la cepa, se descarta el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.</p> <p>11) Inmediatamente se incuban las placas invertida de cultivo principal inoculada a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.</p> <p>12) A las 24 horas de incubación se procede a observar el crecimiento bacteriano en los medios de cultivo, de esa manera se obtiene cepas aisladas para el control de calidad y se procede a realizar las pruebas político correspondiente para cada bacteria (Bioser, 2022).</p>
<p>Conservación de las cepas ATCC para el control de calidad interno</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Esterilización del material como tubos, eppendorf, pipetas, hisopos, gradillas, rotuladores entre otros materiales. 2. En los eppendorf se coloca 500 µl de glicerina y se procede a esterilizarlos para después colocar las colonias respectivas. 3. De las cepas crecidas en el Agar Sangre y MacConkey se procede a tomar una cierta cantidad de colonias, para luego colocarlas en los tubos, hasta obtener una mezcla homogénea. 4. Se realiza la escala de McFarland dándonos una cantidad de 1 en la escala, observando una turbidez contundente. 5. Posteriormente se coloca en las alícuotas con 500 µl de glicerina, 500 µl de la escala de McFarland, cerramos las alícuotas e inmediatamente se rotula cada una de ellas, con el nombre de la cepa y la fecha. 6. Se lleva las alícuotas en una gradilla para mantenerlas en una refrigeración a una temperatura de -80° C para ser utilizadas en el control de calidad de la investigación (Naranjo et al., 2019).
<p>Referencias bibliográficas</p>	<p>Bioser. (2022). <i>KWIK STIK™ Instructions [Microbiologics] (Instrucciones de uso)</i>. https://www.youtube.com/watch?v=cnusj_h-Hok</p> <p>Disk, L. (2016). Aseguramiento de la calidad, servicios y garantías sobre cultivos de material de referencia. <i>Bdcint</i>, 2(10), 1–102. https://bit.ly/3PvZRS8</p> <p>Microbiologics. (2021). <i>Instrucciones de uso para KWIK-STIK™, LYFO DISK™ y KWIK-STIK™ Plus</i>. Inter-American Court of Human Rights. www.microbiologics.com</p> <p>Naranjo, J., Ortiz, S., & Lopez, L. (2019). Estandarización de un método para la conservación de cepas del laboratorio de microbiología de la Escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira. <i>Universidad Tecnológica de Pereira</i>, 1(1), 1–5. https://doi.org/https://bit.ly/3ofA0IC</p>

Anexo N° 15. Protocolo para el control de calidad de medios de cultivo, equipos, tinciones y antibióticos

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA LABORATORIOS DE DOCENCIA DE FSH CARRERA DE LABORATORIO CLINICO LOJA-ECUADOR</p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<p>PROTOCOLO PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO, EQUIPOS, TINCIONES Y DE ANTIBIÓTICOS</p>	<p>CODIGO: LCL-PNT-09</p>
		<p>Revisado/Autorizado: Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc</p>
		<p>Fecha de Elaboración: Enero 2022</p>
		<p>Versión: 001 N° páginas: 9</p>
<p>AREA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</p>		

CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO, EQUIPOS, TINCIONES Y DE ANTIBIÓTICOS

Equipo/Área	Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de la Salud Humana.		
Responsable del Laboratorio	Estudiante		
Objetivos	<p>Describir el control de calidad interno a los medios de cultivo, equipos, colorantes utilizados para las tinciones y como último para corroborar el funcionamiento correcto de los antibióticos durante la ejecución del proyecto de investigación.</p>	Alcance	<p>El presente protocolo está al alcance de los docentes y estudiantes, el cual se cumple con una parte muy importante como lo es el marco del proyecto de investigación; el mismo que asegurará su correcta realización.</p>
Definiciones	<p>El control de calidad es uno de los métodos más utilizados y realizados dentro de un laboratorio, puesto que abarca una serie de procedimientos, los mismos que nos indican un correcto funcionamiento periódico de los equipos, así como los medios de cultivos, antibióticos y reactivos utilizados en el trabajo diario, ya que de esa manera se ayuda a minimizar errores sistemáticos y aleatorios que resulten del personal, el equipo e instrumentos, materiales, reactivos o ciertos métodos analíticos mal aplicados en la determinación de resultados o reportes de datos y así poder aplicar acciones correctivas que beneficien directamente tanto al personal de salud que labora en el laboratorio como al paciente que acude a él (García-Lechuz Moya et al., 2017).</p>		

Acciones preliminares	Verificar que se disponga todos los materiales necesario para el control de calidad interno del laboratorio de Microbiología clínica	Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Kit de bioseguridad (mascarilla, gorro, guantes y traje protector interno) • Lápiz graso • Mechero de Bunsen • Fósforo • Gradillas • Pinzas metálicas • Termómetro • Cinta testigo
Insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Hisopos estériles • Alcohol al 70% • Suero fisiológico • Asas de platino calibrada (0.01ml) • Antibióticos • Inóculos estériles 	Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Cabinas de seguridad • Incubadora • Refrigerador • Densitómetro • Autoclave
		Sustancias y Reactivos	<p>Cepas control ATCC</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <p>Colorantes para Gram:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cristal violeta, Lugol, Alcohol-cetona, Safranina <p>Reactivo de Kovacs</p> <p>Medio de Mueller Hinton</p>
Procedimiento para el control de calidad interno de equipos	<ol style="list-style-type: none"> 1. Los equipos como la incubadora, la estufa y la cabina de bioseguridad los días lunes, miércoles y viernes se les realizó limpieza interna y externa con alcohol al 70% y luego con hipoclorito de sodio para una mejor asepsia y no haya contaminación de los cultivos. 2. Para la utilización del autoclave, se controló la cantidad de agua para cada uso, se lo utilizó a 121 °C a una presión de una atmósfera. 3. Para los microscopios se les verificó los objetivos todos los días antes de la observación de las muestras y una vez terminado el trabajo se limpia los mismo, se coloca el objetivo de menor aumento, la platina toda abajo, desconectado de la corriente eléctrica, tapado con la funda de protección y limpiamos toda su área alrededor con alcohol para eliminar cualquier impureza o contaminación. 4. A la incubadora y el refrigerador se controló la temperatura diariamente con la ayuda de termómetros digitales antes de empezar el trabajo en el laboratorio. <p>Evidencias del control de calidad interno de los equipos</p>		



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
LABORATORIO DE OXIDACIÓN DE BLOQUE
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
LOJA GUAYACÁN
CALLE MANUEL MONTENEGRO
TEL: 071 27 21 79

REGISTRO DE TEMPERATURA DEL CONGELADOR

FORMA: (C) (P) (E)
Número: 1

MES	INDICADOR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
MADRUGA	°C																																
TARDE	°C																																

RESPONSABLE: LUIS RAMON BRUNO MENDOZA
ELABORADO POR: DIFUSION MONTENEGRO

RECOMENDACIONES

- El agente biológico debe ser congelado.
- El agente biológico congelado a 5°C se aplica con una HDA en refrigeración o congelamiento.
- El agente biológico congelado a 5°C se debe descongelar en un baño de agua a temperatura ambiente.
- El agente biológico congelado a 5°C se debe descongelar en un baño de agua a temperatura ambiente.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
LABORATORIO DE OXIDACIÓN DE BLOQUE
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
LOJA GUAYACÁN
CALLE MANUEL MONTENEGRO
TEL: 071 27 21 79

REGISTRO DE TEMPERATURA DE LA INCUBADORA

FORMA: (C) (P) (E)
Número: 2



MES	INDICADOR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
MADRUGA	°C																															
TARDE	°C																															

RESPONSABLE: LUIS RAMON BRUNO MENDOZA
ELABORADO POR: DIFUSION MONTENEGRO



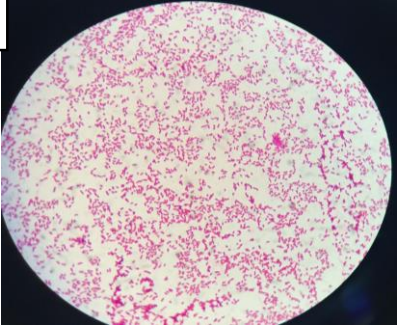
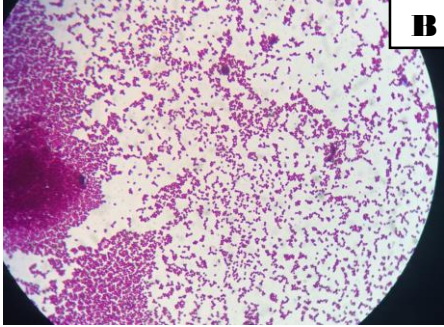

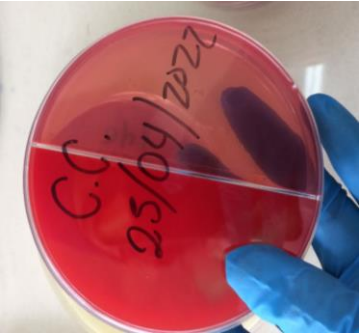

Procedimiento para el control de calidad interno de materiales

Para las asas metálicas, se verifico si estaban correctamente firmes, redondas y estén libres de abolladuras, dobleces, corrosión o material incinerado.

Procedimiento para el control de calidad interno de colorantes para la tinción de Gram

1. Para estandarizar los tiempos apropiados para la realización de la tinción de Gram en muestras de orina patológicas, se tomó a consideración la realización de placas con las cepas control ATCC, por lo que:
 - a. Se realiza un frotis fino en dos portaobjetos, rotulados correctamente con la cepa control que corresponda.
 - b. Se fija los frotis con calor por unos 2 a 3 segundos.
 - c. Luego se procede a realizar la tinción, para ello primero se cubre con colorante cristal violeta durante 1 minuto.
 - d. Luego se lava con agua, pero teniendo precaución de no secar la placa.
 - e. Luego se fija con un reactivo que actúa como mordiente, el lugol por un tiempo de 1 minuto.
 - f. Se lava con agua nuevamente.
 - g. Posterior a ello, se decolora con alcohol- acetona al 30% por 20 s hasta que la no se desprenda colorante del portaobjeto.
 - h. Se vuelve a lavar con abundante agua.
 - i. Finalmente se cubre los frotis con safranina por 20 segundos.
 - j. Lavamos con agua y dejamos secar con aire por unos minutos.

	<p>k. Se procede a observar directamente con el objetivo de mayor aumento, adicionando una gota de aceite de inmersión, donde vamos a diferenciar la presencia de bacterias gram negativas observadas de color rosado y a las bacterias gram positivas, vistas de color morado.</p> <p>Evidencia de las coloraciones de las cepas control</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>A</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>B</p>  </div> </div> <p>A. Cepa control de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p> <p>B. Cepa control de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p>
<p>Procedimiento para el control de calidad interno de medios de cultivo</p>	<p>Para garantizar el correcto funcionamiento de los medios de cultivo, se utiliza la esterilización de los mismos, para ello se utiliza una cinta testigo al momento de esterilizar material de vidrio y agares. Luego fueron almacenados en refrigeración dentro de fundas plásticas y estériles, con su respectivo nombre y fecha de elaboración; de la misma forma las pruebas bioquímicas fueron rotuladas, con fecha de elaboración y guardadas en gradillas dentro del refrigerador.</p> <p>Evidencia del control de calidad de medios de cultivo</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div>
<p>Procedimiento para el control de calidad interno con las cepas ATCC</p>	<p>Se realiza el control de los medios de cultivo más utilizados en el proyecto de investigación con las cepas de referencia de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 betalactamasa negativa y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Evidencia del procesamiento de las cepas control</p>

1

2

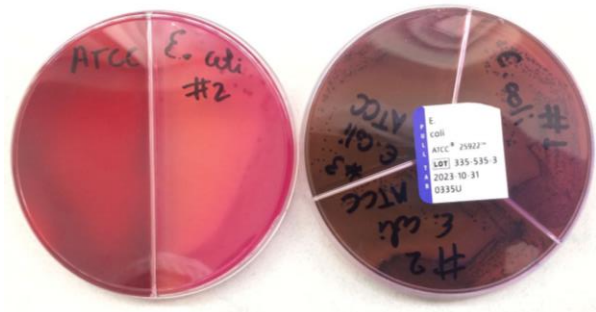


1. Cepa control de *Escherichia coli* ATCC 25922.

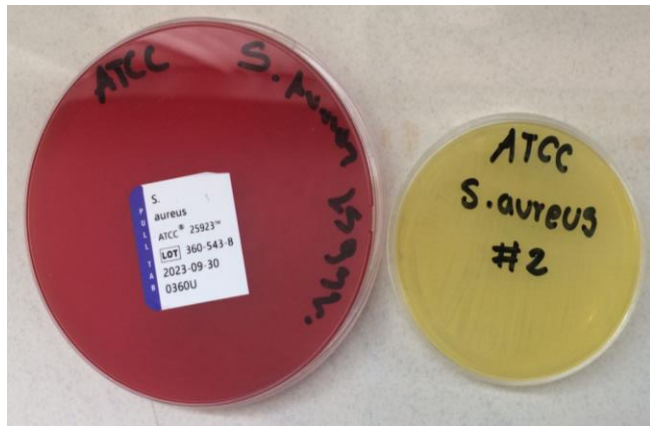
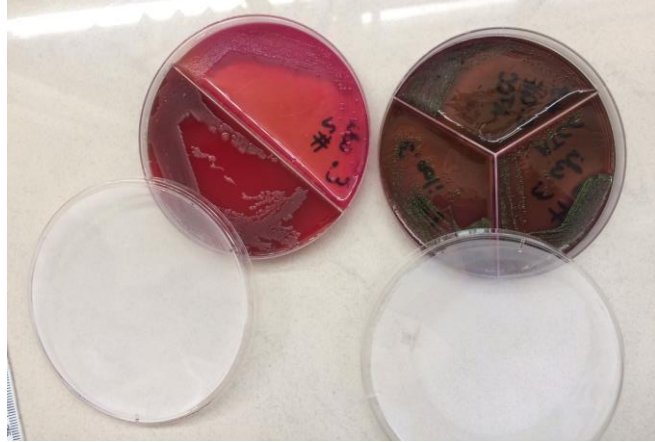
2. Cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Crecimiento de las cepas control en los medios de cultivo Agar sangre, Manitol, MacConkey y E.M.B

1



2



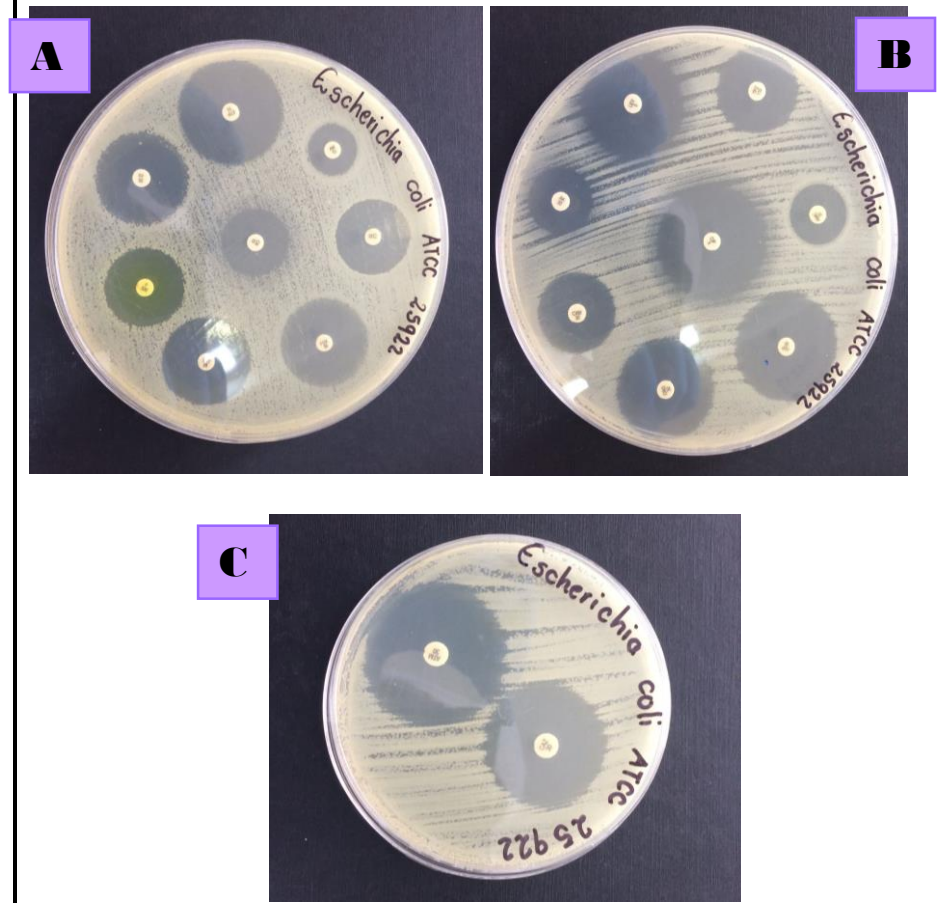
1. Cepa control de *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pruebas bioquímicas de cepas control *Escherichia coli* ATCC 25922

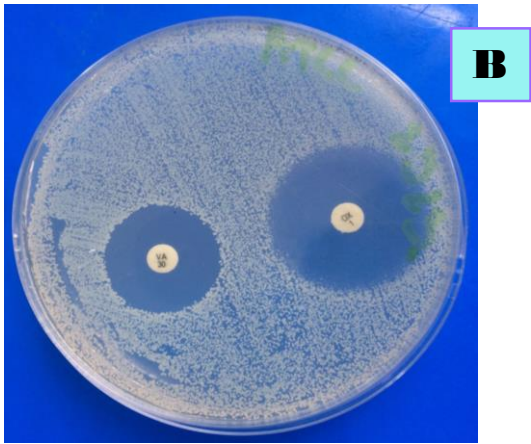
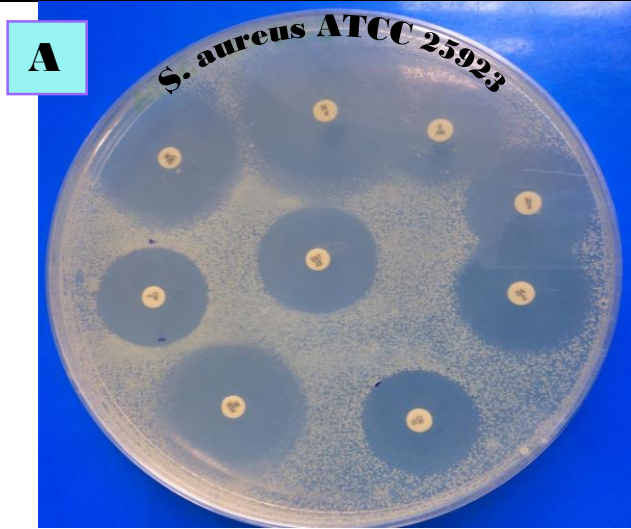


Citrato (-); SIM [Indol (+), Motilidad variable, H₂S (-)]; TSI [(A/A), Gas (+)]; Urea (-); Lisina (+)

Antibiograma de la cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922




Registro de resultados del antibiograma		
A	Medición de	
Antibióticos	halo (mm)	
Ertapenem (ETP)	36 mm	Sensible
Ampicilina (AM)	22 mm	Sensible
Cefazolina (CZ)	26 mm	Sensible
Cefoxitina (FOX)	30 mm	Sensible
Trimetropin/Sulfametoxazol (SXT)	29 mm	Sensible
Nitrocurantoína (F)	25 mm	Sensible
Fosfomicina (FF)	29 mm	Sensible
Gentamicina (CN)	20 mm	Sensible
B	Medición de	
Antibióticos	halo (mm)	
Ciprofloxacina (CIP)	38 mm	Sensible
Levofloxacina (LEV)	36 mm	Sensible
Amikacina (AK)	23 mm	Sensible
Cefuroxima (CXM)	25 mm	Sensible
Ceftriaxone (CRO)	34 mm	Sensible
Cefepime (FEP)	37 mm	Sensible
Amoxicilina/Á, clavulánico (AMC)	21 mm	Sensible
Piperacilina+Tazobactam (TPZ)	28 mm	Sensible
C	Medición de	
Antibióticos	halo (mm)	
Aztreonam (ATM)	38 mm	Sensible
Ceftazidime (CAZ)	35 mm	Sensible
Antibiograma de la cepa control <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		



Registro de resultados del antibiograma

A Antibióticos	Medición de halo (mm)	
Penicilina (P)	32 mm	Sensible
Novobiocina (NV)	22 mm	Sensible
Eritromicina (E)	27 mm	Sensible
Clindamicina (DA)	28 mm	Sensible
Trimetropin/Sulfametoxazol (SXT)	30 mm	Sensible
Gentamicina (CN)	27 mm	Sensible
Cefoxitina (FOX)	30 mm	Sensible
Ciprofloxacina (CIP)	26 mm	Sensible
Linezolid (LNZ)	32 mm	Sensible
B Antibióticos	Medición de halo (mm)	
Vancomicina (VA)	22 mm	Sensible
Oxacilina (OX)	28 mm	Sensible

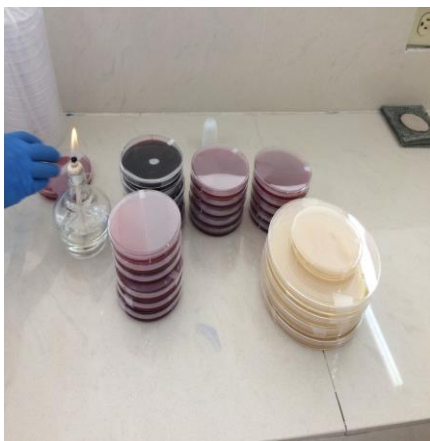
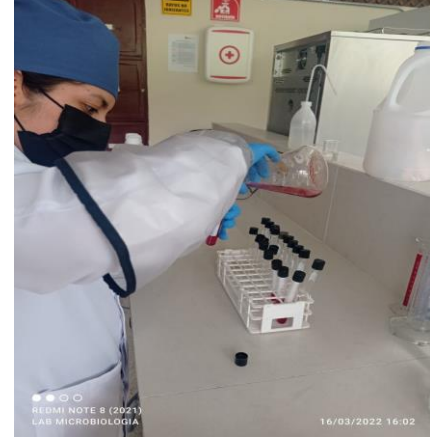
ANEXO N° 16. Formato de recolección de resultados del urocultivo

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTAD DE SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Calle Manuel Monteros y Carlos Román Loja</p>	<p>HOJA DE TRABAJO DE BACTERIOLOGÍA</p>	<p>CÓDIGP LCL-RG-</p>
--	---	-----------------------

DATOS GENERALES		
Nro. CÉDULA:		Nro. MUESTRA:
NOMBRES:		
EDAD:		MUESTRA:
FECHA:		
PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAMNEGATIVOS (ENTEROBACTERIAS)		
Lactosa:	Citrato:	Indol:
Metil Eosin Blue (EMB):	Urea:	Lisina:
TSI:	SIM:	Oxidasa:
PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAMPOSITIVOS		
Catalasa:	Optoquina:	Bilis Esculina:
Manitol:	Bacitracina:	Imipenem:
Novobiocina:	Sulfatrimetoprim:	Cefalotina:
IDENTIFICACIÓN BACTERIANA		
Germen:		# Colonias (UFC):
ANTIBIOGRAMA		
PENICILINAS	CEFALOSPORINAS DE 3ERA GENERACIÓN	FLUOROQUINOLONAS
Penicilina (P)	Ceftazidime (CAZ)	Ciprofloxacina (CIP)
Oxacilina (OX)	Cefotaxime (CTX)	Levofloxacina (LEV)
Ampicilina (AM)	Ceftriaxone (CRO)	NITROFURANTOINAS
GLICOPÉPTIDOS	CEFALOSPORINAS DE 4TA GENERACIÓN	Nitrofurantoína (F)
Vancomicina (VA)	Cefepime (FEP)	AMINOGLUCÓSIDOS
MACRÓLIDOS	INHIBIDORES DE β-LACTAMASAS	Gentamicina (CN)
Eritromicina (E)	Amoxicilina + Ac. Clavulánico (AMC)	Amikacina (AK)
Azitromicina (AZM)	Ampicilina + Sulbactam (SAM)	INHIBIDOR DEL FOLATO
LINCOSAMIDAS	Piperacilina + Tazobactam (TZP)	Trimetoprim + Sulfametoxazol (SXT)
Clindamicina (DA)	MONOBACTÁMICOS	QUINOLONAS
OXAZOLIDONAS	Aztreonam (ATM)	Ácido Nalidíxico (NA)
Linezolid (LZD)	CARBAPENÉMICOS	FENICOLES
CEFALOSPORINAS DE 1ERA GENERACIÓN	Ertapenem (ETP)	Cloranfenicol (C)
Cefazolina (CZ)	Doripenem (DOR)	
Cefadroxilo (CFR)	Imipenem (IPM)	
Cefalexina (CL)	Meropenem (MEM)	
CEFALOSPORINAS DE 2DA GENERACIÓN	FOSFOMICINAS	
Cefoxitina (FOX)	Fosfomicina (FF)	
Cefuroxima (CXM)	LIPOPÉPTIDOS	
Ceftarolina (CPT)	Colistina (CT)	

Anexo N° 17. Evidencias fotográficas del trabajo de campo

1. Elaboración de medios de cultivo y pruebas bioquímicas



2. Llenado del consentimiento informado y encuesta



3. Transporte de muestra de orina del Centro de Salud hacia la Facultad de Salud



4. Procesamiento de muestras de orina

Análisis físico y químico



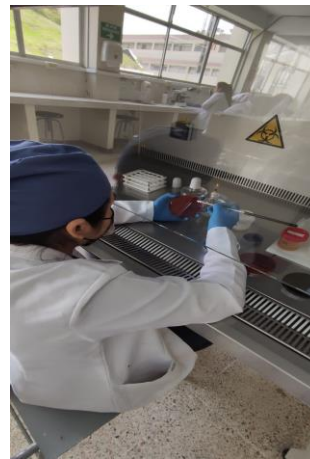
Análisis microscópico



Realización de tinción de Gram



Siembra de muestras de orina



Preparación del inoculo, realización del antibiograma y colocación de los discos



5. Activación y recuperación de cepas control ATCC

