



Universidad  
Nacional  
de Loja

## Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

### **Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en muestras de orina en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario Motupe.**

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

**AUTOR:**

Mario José Aguilar Albito

**DIRECTOR:**

Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

Loja - Ecuador

**2023**

## Certificación de director(a) o tutor(a) del trabajo de integración curricular



**UNL**

Universidad  
Nacional  
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad  
de la Salud  
Humana

Loja, 04 de mayo de 2023

Sra. Dra.

Sandra Freire Cuesta, Esp.

**GESTORA ACADÉMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Ciudad. –

Por medio de la presente, certifico que tras la adecuada asesoría y riguroso monitoreo científico, se ha verificado que el trabajo de integración curricular titulado "Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en muestras de orina en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario Motupe", elaborado por Mario José Aguilar Albito, cumple con las disposiciones institucionales, metodológicas y técnicas establecidas para esta actividad académica. En consecuencia, se confirma que dicho trabajo ha sido culminado y aprobado, y se autoriza a continuar con el proceso de titulación.

Atentamente,



Lcda. Iliana Alicia Delgado Mg. Sc.

**DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

## Autoría

### Autoría

Yo, **Mario José Aguilar Albito**, declaro ser autor/a del presente trabajo de integración curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi trabajo de integración curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:**



**Cédula de identidad:** 1105120008

**Fecha:** actualizada 02 de Junio del 2023

**Correo electrónico:** mario.aguilar@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0989681208

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

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

Yo, **Mario José Aguilar Albito**, declaro ser autor/a del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en muestras de orina en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario Motupe**, como requisito para optar por el título de **Licenciado en Laboratorio Clínico**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio 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 02 días del mes de Junio del dos mil vientes.

Firma:



Autor/a: Mario J. Aguilar Albito

Cédula: 1105120008

Dirección: Nicaragua y Uruguay.

Correo electrónico: [Mario.aguilar@unl.edu.ec](mailto:Mario.aguilar@unl.edu.ec)

Teléfono: 0989681208

DATOS COMPLEMENTARIOS:

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

## **Dedicatoria**

A Dios primeramente por permitirme culminar uno de mis objetivos académicos, brindándome fortaleza, sabiduría, protección y salud en cada momento de mi vida. A mis padres Maritza y Mario, por cultivar en mi sus enseñanzas y consejos de vida, por ser mi soporte incondicional que con su amor, paciencia y esfuerzo han permitido impulsarme a alcanzar una meta más. A mis hermanos Gabriela, Carolina, y Luis David por ser fuente de inspiración en mi realización académica que con su cariño, motivación y confianza han sido quienes me han acompañado y han brindado su ayuda incondicional. A mis abuelitos por velar siempre por mi bienestar y salud.

*Mario José Aguilar Albito*

## **Agradecimientos**

Agradezco a la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja y a toda la planta docente de la carrera de Laboratorio Clínico, que mediante sus conocimientos y enseñanzas brindados han permitido forjarme como profesional.

A mi directora de trabajo de integración curricular Lcda. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc. por las orientaciones y consejos, así como también por las herramientas brindadas para la culminación satisfactoria para la realización del siguiente trabajo.

A la Lcda. Silvia Molina, Mg. Sc. por abrirme las puertas para el uso de los laboratorios de la Facultad de la Salud Humana, así como también las orientaciones encaminadas a la parte práctica de la investigación.

Al BqF. Humberto Daniel Riascos Jaramillo Mg. Sc, por su dirección durante el trayecto de desarrollo y creación del mismo.

A la Lcda. Mariuxi Moreno, Mg. Sc. por su apoyo dirigido en el laboratorio del Centro de Salud Motupe, por brindarme todas las facilidades para la realización de mi trabajo de integración curricular.

*Mario José Aguilar Albito*

## Índice de Contenidos

Portada.....	i
Certificación de director(a) o tutor(a) del trabajo de integración curricular .....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización por parte del autor/a, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular .....	iv
Dedicatoria .....	v
Agradecimientos.....	vi
Índice de Contenidos .....	vii
Índice de Figuras .....	x
Índice de Tablas.....	xi
Índice de Anexos .....	xii
1. Título .....	1
2. Resumen .....	2
2.1. Abstract.....	3
3. Introducción .....	4
4. Marco Teórico .....	6
4.1. Infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas.....	6
4.1.1. Factores de riesgo de infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas .....	6
4.1.2. Agentes etiológicos .....	7
4.1.3. Epidemiología de infecciones de vías urinarias y perfil de resistencia.....	7
4.2. Resistencia Bacteriana .....	8
4.2.1. Mecanismos de Resistencia .....	8
4.2.1.2. Origen genético de la farmacorresistencia; .....	9
4.2.1.2.1. Resistencia Cromosómica .....	9
4.2.1.2.2. Resistencia Extra cromosómica.....	9
4.2.1.2.3. Resistencia Cruzada .....	9
4.2.2. Mecanismos de resistencia bacteriana a betalactámicos en bacilos gram negativos	9
4.2.2.1. $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA) .....	9
4.2.2.2. $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA) .....	10
4.2.2.3. $\beta$ -lactamasa tipo AmpC .....	10
4.2.2.4. $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) .....	11
4.2.2.5. Carbapenemasas .....	11
4.2.2.5.1. KPC (clase A).....	11

4.2.2.5.2. Metalo-β-lactamasas (clase B) .....	12
4.2.2.5.3. Tipo OXA-48 (clase D).....	12
4.2.3. Mecanismos de resistencia bacteriana en cocos gram positivos.....	12
4.2.3.1. Staphylococcus spp; .....	12
4.2.3.1.1. Resistencia a la Penicilina .....	12
4.2.3.1.2. Resistencia a la meticilina .....	13
4.2.3.1.3. Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas .....	13
4.2.3.2. Enterococcus spp;.....	14
4.2.3.2.1. Resistencias naturales propias del género .....	14
4.2.3.2.2. Resistencia natural propia de la especie .....	14
4.2.3.2.3. Resistencia adquirida a β-lactámicos .....	14
4.2.3.2.3. Resistencia adquirida a aminoglucósidos.....	14
4.2.3.2.4. Resistencia adquirida a glucopéptidos .....	15
4.3. Diagnóstico de infecciones de vías urinarias.....	15
4.2.1. Urocultivo .....	15
4.2.2. Antibiograma por disco difusión .....	15
4.4. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia.....	16
4.4.1. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gram negativos.....	16
4.4.1.1. Detección fenotípica de β-lactamasas de espectro ampliado (BLEA); .....	16
4.4.1.2. Detección fenotípica de β-lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA-1); .....	16
4.4.1.3. Detección fenotípica de β-lactamasas de tipo AmpC; .....	17
4.4.1.3.1. Fenotipo AmpC inducible. ....	17
4.4.1.3.2. Fenotipo AmpC desreprimida .....	17
4.4.1.3.3. Fenotipo AmpC plasmídica.....	17
4.4.1.4. Detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).....	17
4.4.1.5. Detección fenotípica de Carbapenemasas .....	17
4.4.1.5.1. KPC (clase A).....	18
4.4.1.5.2. Metalo-β-lactamasas (clase B). ....	18
4.4.1.5.3. Tipo OXA-48 (clase D).....	18
4.4.2. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en cocos gram positivos .....	18
4.4.2.1. Staphylococcus SPP; .....	18
4.4.2.1.1. Detección fenotípica de resistencia a la penicilina.....	19
4.4.2.1.2. Detección fenotípica de resistencia a la meticilina. ....	19
4.4.2.1.3. Detección fenotípica de resistencia a MLS .....	19



4.4.2.2. Enterococos SPP. ....	19
4.4.2.2.1. Detección fenotípica de resistencia adquirida a $\beta$ -lactámicos.....	19
4.4.2.2.2. Detección fenotípica de resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos. ....	20
4.4.2.2.3. Detección fenotípica de resistencia adquirida a los glucopéptidos .....	20
5. Metodología .....	21
5.1. Área de estudio .....	21
5.2. Procedimiento.....	21
5.2.1. Enfoque metodológico .....	21
5.2.2. Técnicas .....	21
5.2.4. Unidad de estudio .....	21
5.2.5. Muestra y tamaño de la muestra .....	21
5.2.3. Tipo de diseño utilizado.....	21
5.2.6. Tipo de muestreo.....	21
5.2.8. Criterios de inclusión .....	21
5.2.9. Criterios de exclusión .....	21
6. Resultados .....	23
7. Discusión.....	29
8. Conclusiones .....	34
9. Recomendaciones.....	35
10. Bibliografía.....	36
11. Anexos.....	40

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Perfil de susceptibilidad de Escherichia Coli en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023. ....	25
<b>Figura 2</b> Perfil de susceptibilidad de Staphylococcus Saprophyticus en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023. ....	26
<b>Figura 3</b> Mecanismos de resistencia encontrados en Escherichia Coli en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023. ....	27
<b>Figura 4</b> Mecanismos de resistencia encontrados en Staphylococcus Saprophyticus en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023 .....	28

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Resistencia de antimicrobianos encontrada en Escherichia Coli en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023. ....	23
<b>Tabla 2</b> Resistencia de antimicrobianos encontrada en Staphylococcus Saprophyticus en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023. ....	24

## Índice de Anexos

Anexo 1. Solicitud a la directora de la carrera para aprobación del trabajo de integración curricular.....	40
Anexo 2. Oficio de aprobación y designación de director del trabajo de integración curricular. ....	41
Anexo 3. 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. ....	42
Anexo 4. Certificación de traducción de resumen a idioma inglés. ....	43
Anexo 5. Consentimiento Informado. ....	44
Anexo 6. Protocolo de preparación para la toma de muestra de orina e indicaciones previas a la paciente .....	46
Anexo 7. Formato de registro de pacientes. ....	47
Anexo 7. Registro de temperaturas de equipos utilizados.....	48
Anexo 8. Protocolo de preparación de agar Müller Hinton.....	50
Anexo 9. Protocolo para realización del control de calidad cepas ATCC.....	53
Anexo 10. Técnica De Kirby Bauer. ....	55
Anexo 11. Diseño de plantillas para la realización del antibiograma.....	57
Anexo 12. Detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido.....	63
Anexo 13. Detección fenotípica de carbapenemasas.....	71

## **1. Título**

Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en muestras de orina en  
pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario Motupe

## 2. Resumen

Durante el embarazo se producen cambios anatómicos, fisiológicos e inmunológicos que predisponen a las mujeres a la infección del tracto urinario. Al presentarse una infección de vías urinarias bacteriana, es necesario realizar la identificación e interpretación del antibiograma, el cual permite tomar la decisión correcta en la eficacia terapéutica y posibilita establecer el fenotipo de resistencia. Las bacterias multirresistentes han provocado una dificultad en su tratamiento debido a la ineficacia terapéutica provocada por la resistencia frente a los antimicrobianos, varios de estos mecanismos de resistencia pueden presentarse en los agentes bacterianos confiriéndoles resistencia a múltiples fármacos. Al recibir tratamiento sin eficacia terapéutica, ocurren consecuencias graves en una población vulnerable, desencadenado pielonefritis hasta riesgo de un parto prematuro, mortalidad neonatal, bajo peso al nacer y malformaciones en el feto; es por ello que, la siguiente investigación tiene como objetivo determinar la resistencia bacteriana de agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023, identificando así su perfil de susceptibilidad y estableciendo la frecuencia de los diferentes mecanismos de resistencia. De las 64 muestras que cumplieron los criterios de inclusión se analizaron 6 muestras de *Escherichia Coli* y 1 *Staphylococcus Saprophyticus*, El antibiograma reveló resistencia a ampicilina en un 50%, amoxicilina/ácido clavulánico 33,33%, ciprofloxacina 16,67%, y trimetoprima/sulfametoxazol 33,33%, en *Escherichia Coli*, además se estableció la presencia de mecanismos como  $\beta$ -lactamasas de espectro reducido en un 50% y  $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores en un 33,33%. Por otra parte, el antibiograma de *Staphylococcus Saprophyticus* reveló resistencia en un 100% para eritromicina, penicilina 100%, oxacilina 100% y cefoxitina 100%, con la presencia de  $\beta$ -lactamasas en un 100%, resistencia a la meticilina en un 100% y macrólidos en un 100%.

**Palabras Clave:** embarazo, antimicrobianos, farmacorresistencia, antibiograma.

## 2.1. Abstract

Anatomical, physiological, and immunological changes occur during pregnancy that predispose women to urinary tract infection. When a bacterial urinary tract infection occurs, it is necessary to identify and interpret the antibiogram, which allows the correct decision to be made regarding therapeutic efficacy and makes it possible to establish the resistance phenotype. Multi-resistant bacteria have caused difficulties in their treatment due to therapeutic ineffectiveness caused by resistance to antimicrobials. Several of these resistance mechanisms can occur in isolated bacterial agents, conferring resistance to multiple drugs. When receiving treatment without therapeutic efficacy, serious consequences occur in a vulnerable population, triggering pyelonephritis to the risk of premature birth, neonatal mortality, low birth weight and malformations in the fetus; for this reason, the following research aims to determine the bacterial resistance of etiological agents of urinary tract infection in pregnant patients of the Motupe Health Center in the period October 2022 to March 2023, thus identifying its susceptibility profile and establishing the frequency of the different resistance mechanisms. Of the 64 samples that met the inclusion criteria 6 samples of *Escherichia Coli* and 1 *Staphylococcus Saprophyticus* were isolated. The antibiogram revealed resistance to ampicillin in 50%, amoxicillin/clavulanic acid 33.33%, ciprofloxacin 16.67%, and trimethoprim/sulfamethoxazole 33.33%, in *Escherichia Coli*. In addition, the presence of mechanisms such as  $\beta$ -lactamases of narrow spectrum by 50% and  $\beta$ -lactamases resistant to inhibitors by 33.33%. On the other hand, the antibiogram of *Staphylococcus Saprophyticus* revealed 100% resistance to erythromycin, 100% penicillin, 100% oxacillin, and 100% cefoxitin, with the presence of  $\beta$ -lactamases in 100%, resistance to methicillin in 100%, and 100% macrolides.

**Keywords:** pregnancy, antimicrobials, drug resistance, antibiogram.

### 3. Introducción

La resistencia antimicrobiana se define como la capacidad de una bacteria a no ser inhibida por la acción o efecto de un antimicrobiano. Las bacterias multirresistentes dificultan su tratamiento, hacen que se prolongue las estancias hospitalarias, aumenten los costos médicos y la mortalidad, es por ello necesario su control e investigación (OMS, 2020).

Una de las afectaciones más frecuente provocada por las bacterias son las infecciones de vías urinarias. En Estados Unidos la infección de vías urinarias representa 7 millones de consultas médicas al año, generando la prescripción de 15% de todos los antibióticos de uso extrahospitalario. (Quirós y Apolaya, 2018).

Durante el embarazo se presentan condiciones anatómicas, fisiológicas y cambios inmunológicos que predisponen a las mujeres a la infección del tracto urinario (Habak & Griggs, 2022). Las infecciones urinarias ocurren en el 2% al 20% de las mujeres embarazadas, alrededor del 20% de las embarazadas han presentado alguna forma de infección de vías urinarias, la bacteriuria asintomática representa un riesgo alto para la gestante debido a que por ser asintomática es pasada por alto tanto por las pacientes como por el personal de salud de esta manera al no recibir tratamiento, puede generarse desde pielonefritis hasta riesgo de un parto prematuro, mortalidad neonatal, bajo peso al nacer y malformaciones en el feto (Alcívar & Cevallos, 2020).

Para el control y la prevención de la resistencia conferida por las bacterias se desarrolla el antibiograma, el cual permite tomar la decisión correcta en la eficacia terapéutica y además identificar el fenotipo de resistencia. La resistencia a los antibióticos es un fenómeno creciente, tanto en Estados Unidos como como en todo el mundo, es así que *Escherichia coli* sigue siendo el uropatógeno más frecuente en la población obstétrica, sin embargo, su tratamiento se complica al presentarse mecanismos de resistencia como BLEE ya que a menudo se asocian con resistencia a múltiples fármacos betalactámicos (Chu & Lowder, 2018).

En Ecuador se ha registrado varios brotes de infecciones asociadas con la atención en salud. En hospitales de nuestro país desde el año 2010, se han identificado bacterias con mecanismos de resistencia KPC y NDM-1 principalmente carbapenemasas pertenecientes a enterobacterias con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis* (MSP, 2018). Según datos del (INEC, 2020), las enfermedades del sistema urinario comprenden el 2,6% de las defunciones femeninas y se ubican en la octava causa de muerte en las mujeres.



Para el siguiente proyecto se planteó como objetivo, determinar la resistencia bacteriana de agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Motupe. Las infecciones urinarias en el embarazo han dejado de ser consideradas una complicación leve y se han convertido en un problema de salud pública, por esta razón es importante determinar su resistencia bacteriana y mecanismos de resistencia. Los beneficios de la investigación serán de gran ayuda para la atención en salud ya que permitirá una terapia eficaz, vigilancia de la resistencia a los antibióticos y evitar las complicaciones de las mujeres embarazadas del Centro de Salud Motupe, mejorando así la calidad de vida materno fetal.

## **4. Marco Teórico**

### **4.1. Infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas**

La infección del tracto urinario se define como la presencia de microorganismos capaces de producir alteraciones funcionales y morfológicas en las vías urinarias. Se asocia principalmente a las mujeres debido a la anatomía del tracto genitourinario, hábitos miccionales y situaciones fisiológicas que generan mayor predisposición. En mujeres embarazadas, se considera de gran importancia dado que corresponde a una de las complicaciones obstétricas más frecuentes, superada únicamente por la anemia y la cervicovaginitis (Viquez et al., 2020).

Durante la gestación, existen cambios anatómicos y fisiológicos en el sistema urinario que propician a hidronefrosis conocido también como hinchazón de riñón, reflujo vesicoureteral y cambios fisicoquímicos en la orina. Esto, asociado a las alteraciones hormonales como el aumento en la progesterona, la disminución del tono muscular uretral y vesical, y la reducción en la peristalsis ureteral conllevan a estasis urinaria; generando así, un entorno facilitador para sobrecrecimiento bacteriano y potencial desarrollo de un foco séptico (Viquez et al., 2020).

Las infecciones de vías urinarias se pueden encontrar afectado el tracto urinario bajo, denominándose, así como cistitis aguda a la infección en la vejiga, la mayoría de estos casos de cistitis son causados por bacterias pertenecientes al área rectal. En las mujeres, el recto y la uretra están demasiado cerca uno del otro. Esto provoca que las bacterias pasen fácilmente directo a la uretra. Por otra parte, la pielonefritis aguda es la infección e inflamación de las nefronas relativamente frecuente en mujeres posmenopáusicas y cuando no está relacionada con otra patología urológica, se ha sugerido que pudieran guardar correspondencia con valores bajos de estrógenos (Martínez et al., 2019).

Las infecciones de vías urinarias son uno de los primeros motivos de consulta médica en mujeres en edad reproductiva. Se ha evidenciado que el 40% a 60% de las mujeres padecerán un caso de infecciones de vías urinarias durante su vida y de 3% a 5% tendrán múltiples casos (Martínez et al., 2019).

#### ***4.1.1. Factores de riesgo de infecciones de vías urinarias en mujeres embarazadas***

El principal factor de riesgo para las ITU es el embarazo; y durante el embarazo, el antecedente de una ITU en las semanas previas o al inicio de la gestación es el factor predisponente de mayor relevancia. Existen otros factores de riesgo como malformaciones urogenitales, infecciones de transmisión sexual, diabetes mellitus, anemia de células falciformes, inmunosupresión y nivel socioeconómico bajo (Tudela et al., 2019).

Dentro de los factores de riesgo de recurrencia de ITU en mujeres edad reproductiva se encuentran la edad menor de 15 años durante el primer episodio de ITU, historia familiar de ITU en la madre, la frecuencia de relaciones sexuales, uso de espermicidas, nuevas parejas sexuales y multiparidad (Tudela et al., 2019).

#### **4.1.2. Agentes etiológicos**

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son generadas principalmente por bacterias gram negativas entre ellas se encuentra *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, y otras enterobacterias, además de bacterias gram positivas como *Staphylococcus saprophiticus* (Durán, 2018).

#### **4.1.3. Epidemiología de infecciones de vías urinarias y perfil de resistencia**

En el Ecuador se han realizados varios estudios para evaluar el panorama de los agentes etiológicos más comunes en casos de infecciones de vías urinarias:

Según estudios realizados por (Jiménez, 2019) en 246 gestantes atendidas en el Hospital José Carrasco Arteaga IESS en la ciudad de Cuenca, en el periodo agosto 2018 a marzo 2019, se evidencio al realizar el urocultivo la mayoría obtuvo un resultado positivo, con el 54,5%, además se observó que el principal microorganismo aislado fue *Escherichia coli* en un 44,7%, seguido por el *Enterobacter spp* en un 2,4%. El antibiograma también demostró que predomina la resistencia a ampicilina en un 20,1%, ampicilina/sulbactam 10,4% y ciprofloxacina en un 9,7%. Finalmente se obtuvo una incidencia de bacteriuria asintomática de 54,5% en las mujeres gestantes.

Por otra parte, estudios realizados por (Espinoza et al., 2022), en muestras de urocultivo de mujeres gestantes Hospital de Sangolquí en la provincia de Pichincha, demostraron que de los 537 urocultivos; el 23,09% resultó positivo, de esta manera se logró aislar *Escherichia coli* con mayor frecuencia en un 73,39% seguido por *Staphylococcus spp* en 12,10 % y *Enterobacter aereogenes* en 4,03 %. El resultado del antibiograma mostró que la resistencia bacteriana de *Escherichia coli* fue de ampicilina en 61,5%, cefuroxima 63,7%, cefazolina 40,7%, cefalexina 58,2%, ampicilina/sulbactam 23,1, fosfomicina 11%, ceftriaxona 9,90%, nitrofurantoina 11% y cefuroxima 63,70%.

De acuerdo con (Gadvay & Peñafiel, 2019), en un estudio realizado en el Hospital IESS Básico Durán durante el periodo “enero 2017-diciembre 2018, se diagnosticó a 419 mujeres embarazadas con infección del tracto urinario, de las cuales el 84% se aisló *Escherichia coli*, 2,86% pacientes correspondientes a *Klebsiella*, 4,1% pacientes a *Staphylococcus saprophiticus*

y 2,10% a *Proteus mirabilis*. El antibiograma también demostró que el 93% eran resistentes a la ampicilina, el 73% fue resistente a la ampicilina/sulbactam, 56% presentaban resistencia a la cefalexina, 5% presentaban resistencia a nitrofurantoina, 3% era resistente a fosfomicina, 4% ceftriaxona y 9% a gentamicina.

## **4.2. Resistencia Bacteriana**

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente en el cual las bacterias adquieren genes de resistencia exógenos o mutaciones cromosómicas que producen que el antimicrobiano no tenga efecto en ellas. El mal uso de los antibióticos ha acelerado la diseminación de bacterias multirresistentes que ha evolucionado para soportar a varios antimicrobianos (Durão et al., 2018).

### **4.2.1. Mecanismos de Resistencia**

Hay varios mecanismos mediante los cuales las bacterias adquieren resistencia a los fármacos. Entre ellos se encuentran (Carroll et al., 2016):

- Producción de enzimas que destruyen el fármaco activo.
- Cambio de la permeabilidad del fármaco.
- Formación de un sitio estructural modificado para la acción del fármaco.
- Formación de una vía metabólica modificada provocando una desviación en la reacción inhibida por el fármaco.
- Producción de enzimas modificadas que alteren su acción metabólica.

#### **4.2.1.2. Origen genético de la farmacorresistencia;**

**4.2.1.2.1. Resistencia Cromosómica;** son la consecuencia de una mutación espontánea en el locus que regula la sensibilidad a determinado antimicrobiano, las mutaciones espontáneas ocurren con una frecuencia de  $10^{-12}$  a  $10^{-7}$  constituyendo una resistencia clínica a los antimicrobianos. Los mutantes cromosómicos son resistentes debido cambios de receptores estructuralmente y también la mutación provoca una pérdida de las proteínas fijadoras de  $\beta$ -lactámicos (Carroll et al., 2016).

**4.2.1.2.2. Resistencia Extra cromosómica;** los plásmidos son elementos genéticos extra cromosómicos que transportan genes de resistencia a uno o varios antimicrobianos. Los genes pertenecientes a los plásmidos establecen resistencia a las penicilinas y cefalosporinas al transportar genes que provocan la formación de  $\beta$ -lactamasas. También los plásmidos son responsables de codificar enzimas que acetilan o fosforilan a diversos aminoglucósidos (Carroll et al., 2016).

**4.2.1.2.3. Resistencia Cruzada;** algunas bacterias que son resistentes a cierto fármaco presentan múltiple resistencia debido a que comparten el mecanismo de acción o existe una similitud química entre fármacos de modo similar a los que tienen enlace o mecanismo de acción similar (Carroll et al., 2016).

#### **4.2.2. Mecanismos de resistencia bacteriana a betalactámicos en bacilos gram negativos**

**4.2.2.1.  $\beta$  -lactamasas de espectro ampliado (BLEA);** se caracterizan por hidrolizar aminopenicilinas (amoxicilina y ampicilina) y carboxipenicilinas (carbenicilina y ticarcilina) lo que expresa en resistencia fenotípica a estos antibióticos en la mayoría de casos provocada por  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado TEM-1, TEM-2 y SHV-1. Las BLEA pueden ser plasmídicas generadas por una resistencia adquirida o cromosómicas generadas por una resistencia natural, esta última se presenta en todos los aislamientos de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* ya que las cepas salvajes presentan resistencia natural conferida por la producción de BLEA sin embargo pueden encontrarse aislamientos de *Klebsiella spp* con sensibilidad intermedia o incluso algunos sensibles a ampicilina (Abusamra et al., 2019).

**4.2.2.2.  $\beta$  -lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA);** las IRT se caracterizan por presentar resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas siendo resistentes a la acción de inhibidores de  $\beta$ -lactamasas de clase A como el ácido clavulánico y en mayor parte no tienen actividad sobre los demás  $\beta$ -lactámicos. Generalmente las IRT se han aislado principalmente en *Escherichia coli* de infecciones urinarias generadas en la comunidad, sin embargo, la prevalencia es variable debido al área geográfica y métodos de detección. Por otra parte, las oxacilinas (OXA) presentan un fenotipo similar a las IRT con excepción que pueden presentar una menor sensibilidad a cefepime, además debido es posible observar sinergia entre ácido clavulánico y cefepime mediante la técnica de Kirby Bauer. Cabe resaltar que la detección fenotípica de las enzimas IRT y OXA-1 solo es factible en bacterias como *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella* entérica (Abusamra et al., 2019).

**4.2.2.3.  $\beta$ -lactamasa tipo AmpC;** son enzimas codificadas por genes cromosómicos en algunas especies de enterobacterias, también se pueden encontrar como enzimas adquiridas por plásmidos. En su forma cromosómica pueden producir esta enzima de forma constitutiva o inducible. Cuando el gen *blaAmpC* se expresa de forma constitutiva este produce niveles bajos de la encima de manera que los niveles bajos AmpC no llegan a hidrolizar de forma significativa los diferentes  $\beta$ -lactámicos. En especies de enterobacterias se producen esta  $\beta$ -lactamasa de forma cromosómica inducible de tal manera que en presencia de un  $\beta$ -lactámico inductor se comienza a sintetizar grandes cantidades de esta enzima. En aislamientos de AmpC inducible, su expresión suele desreprimida por mutaciones puntuales lo que provoca una producción de grandes cantidades de AmpC en ausencia de un  $\beta$ -lactámico inductor (Meini et al., 2019).

**4.2.2.4.  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE);** son un grupo de enzimas que extienden su espectro de hidrolisis a cefalosporinas de tercera y cuarta generación además de monobactámicos (aztreonam). No afectan a cefamicinas (cefotaxima) ni a carbapenemes (imipenem, meropenem y ertapenem) y son inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam y avibactam. Se han identificado más de 300 tipos de BLEE diferentes la mayoría pertenece a la clase A de Ambler, entre ellas se encuentran las TEM y SHV, derivadas de BLEA y la familia CTX-M, siendo esta última la más frecuente aislada en la mayor parte del mundo tanto en infecciones comunitarias como intrahospitalarias. Los genes que codifican las BLEE se encuentran en los plásmidos lo que facilita su diseminación, con frecuencia estos plásmidos transfieren resistencia a otros antimicrobianos como aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas produciendo así multiresistencia en las enterobacterias productoras de BLEE (Gonzales et al., 2022).

**4.2.2.5. Carbapenemasas;** son capaces de hidrolizar carbapenémicos y betalactámicos al romper la estructura del anillo  $\beta$ -lactámico interfiriendo así con su mecanismo de acción. Las betalactamasas se clasifican en diferentes clases según su secuencia de aminoácidos o su funcionalidad (Kopotsa et al., 2019).

**4.2.2.5.1. KPC (clase A);** las enzimas de tipo KPC poseen actividad hidrolítica sobre penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenemes. se ha evidenciado que la resistencia de producción de KPC es más frecuente en *Klebsiella Pneumoniae* y el gen ha sido adquirido por otras especies como *Enterobacter spp.* y *Escherichia coli*, también se ha descrito la presencia de enzimas KPC en *Pseudomonas Aeruginosa* y en *Acinetobacter Baumannii*. Las enzimas de tipo KPC poseen actividad hidrolítica sobre las penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos, no son inhibidas por el ácido clavulánico, pero sí por el ácido borónico. Existen otro tipo de carbapenemasas de clase A conocidas como SME, NMC e IMI que se han identificado en aislamientos de *Enterobacter spp.*, estas enzimas les confieren un fenotipo con pérdida marcada a la tercera y cuarta generación no son inhibida por el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Kopotsa et al., 2019).

**4.2.2.5.2. Metallo- $\beta$ -lactamasas (clase B);** las  $\beta$ -lactamasas de clase B depende de zinc para realizar su actividad hidrolítica. Dentro de este subgrupo se encuentran la NDM perteneciente a la clase B de Ambler y 3 de Bush y Jacoby, presenciados en bacterias como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. A diferencia de las KPC, su diseminación ha ocurrido en el entorno médico y la comunidad. Esta carbapenemasa es capaz de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes, pero, a diferencia de KPC, no hidroliza aztreonam y es inhibida por EDTA. Otras metalo-  $\beta$ -lactamasas de importancia médica son las VIM e IMP. Las metalo- $\beta$ -lactamasas de tipo VIM han sido detectadas con mayor frecuencia en cepas de enterobacterias al igual que las NDM afectan a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos con la excepción del aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, el sulbactam o el tazobactam, pero sí por EDTA (Íñigo & Pozo, 2022).

**4.2.2.5.3. Tipo OXA-48 (clase D);** las  $\beta$ -lactamasas de clase D de Ambler se conocen como enzimas hidrolizantes de oxacilina comprenden más de 200 enzimas. Algunas de las  $\beta$ -lactamasas de tipo OXA tienen la capacidad de hidrolizar carbapenémicos. En enterobacterias, la OXA-48 son las de mayor importancia clínica, su predicción es mediadora de la resistencia a penicilinas y carbapenemes (especialmente imipenem), pero no a las cefalosporinas. La mayoría de los casos se han notificado en *K. pneumoniae*, aunque también pueden afectarse otras enterobacterias, a menudo OXA-48 (Íñigo & Pozo, 2022).

### **4.2.3. Mecanismos de resistencia bacteriana en cocos gram positivos**

#### **4.2.3.1. Staphylococcus spp;**

**4.2.3.1.1. Resistencia a la Penicilina;** se debe a la producción de una  $\beta$ -lactamasas inducible que hidroliza solo penicilinas, esta resistencia es transmitida por plásmidos que codifican la producción de penicilinas, actualmente el 90% de las cepas de *Staphylococcus aureus* producen penicilinas (Aspiroz et al., 2020).



**4.2.3.1.2. Resistencia a la meticilina;** la resistencia a la meticilina implica resistencia a todos los  $\beta$ -lactámicos incluyendo las penicilinas, combinaciones de  $\beta$ -lactámicos con IBL, cefalosporinas y carbapenemes. La excepción a esta regla corresponde a las nuevas cefalosporinas (ceftarolina y ceftobiprol). La resistencia se debe a la adquisición gen *mecA* la cual codifica la producción de una PBP2 adicional denominada PBP2a provocando escasa afinidad por los  $\beta$ -lactámicos la síntesis de la pared bacteriana a pesar de la inhibición de PBP1, PBP2, PBP3 y PBP4. Por otra parte, existen otros mecanismos de resistencia a meticilina que no implican la adquisición del gen *mecA* se trata de las cepas BORSA asociadas a una hiperproducción de penicilinas que degrada oxacilina y la meticilina, también las cepas MODSA produce un cambio en las PBP1, 3 y 4, ya sea por hiperproducción o por mutaciones puntuales, que disminuyen la afinidad por la meticilina (Lee et al., 2018).

**4.2.3.1.3. Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas;** estos antimicrobianos comparten un mecanismo de acción similar de inhibición de la síntesis proteica de las bacterias al unirse a la subunidad 50s del ribosoma bacteriano, la resistencia suele estar codificada por genes presentes en plásmidos y transposones y se produce por dos mecanismos según (Al Amara, 2022):

- Eflujo por medio de bombas de expulsión: este mecanismo es específico para macrólidos y estreptograminas también es llamada fenotipo M.

- Modificación del sitio de unión del antibiótico por metilación: se produce por la modificación del sitio diana a través de una metilasa del ácido ribonucleico ribosómico que provoca un cambio conformacional del ribosoma impidiendo la unión de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, este mecanismo se conoce como fenotipo MLS y puede ser inducible o consitutivo.

#### **4.2.3.2. Enterococcus spp;**

**4.2.3.2.1. Resistencias naturales propias del género;** las especies de enterococos son naturalmente resistentes clindamicina, penicilinas semisintéticas, ertapenem y cefalosporinas excepto ceftarolina y ceftobiprol, además presentan resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol. La tolerancia a los  $\beta$ -lactámicos sucede porque los enterococos expresan PBP de baja afinidad por los  $\beta$ -lactámicos. Los enterococos poseen también resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos debido a un transporte deficiente del aminoglucósido hacia el interior de la célula lo que no permite que sea efectivo el tratamiento como monoterapia sin embargo si se asocia el aminoglucósido a otro agente que actúe en la pared bacteriana, como un  $\beta$ -lactámico o glucopéptido se produce un aumento del ingreso del aminoglucósido produciendo un efecto sinérgico bactericida (Torres et al., 2018).

**4.2.3.2.2. Resistencia natural propia de la especie;** las especies *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. flavescens* presentan resistencia natural a la vancomicina debido a la presencia del gen *vanC* de localización cromosómica y no transferible (García & Rice, 2019).

**4.2.3.2.3. Resistencia adquirida a  $\beta$ -lactámicos;** la resistencia adquirida de alto nivel a ampicilina es rara en *Enterococo faecalis*, pero es muy frecuente en *Enterococo faecium*, el mecanismo de resistencia se debe principalmente a la hiperproducción de PBP5 y mutaciones del gen *pbp5* lo cual confiere que las cepas sean resistentes a penicilina, ampicilina, amoxicilina, piperacilina y combinaciones de  $\beta$ -lactámicos con inhibidor. Por otra parte, en el caso de *Enterococo faecalis* se describió la producción de una  $\beta$ -lactamasa similar a la producida por *S. Aureus* mediada por plásmidos (Gagetti et al., 2019).

**4.2.3.2.3. Resistencia adquirida a aminoglucósidos;** los enterococos poseen una baja resistencia a los aminoglucósidos sin embargo pueden adquirir resistencia de alto nivel por mecanismos como la protección ribosomal en el cual se produce cambios en la subunidad ribosómica 30s que dan lugar a una disminución de la unión de la estreptomicina (Torres et al., 2018). Por otra parte existen mecanismos como la adquisición de enzimas inactivantes que producen un cambio conformacional en el aminoglucósido y lo inactivan, estas enzimas pueden ser fosfotransferasas, acetiltransferasas o nucleotidiltransferasas (García & Rice, 2019).

**4.2.3.2.4. Resistencia adquirida a glucopéptidos;** algunas especies de enterococos como *Enterococo gallinarum* y *Enterococo casseliflavus* son intrínsecamente resistentes a la vancomicina, pero otras especies de enterococos pueden adquirir un mecanismo de resistencia a la vancomicina debido a la expresión de genes Van que codifican la síntesis de precursores modificados de la pared celular de baja afinidad de unión a la vancomicina (que terminan en d-alanina-d-lactato o d-alanina-d-serina) codificados por varios grupos de genes, de los cuales los operones vanA y vanB son más frecuentes y otros menos frecuentes como vanD, vanE, vanG, vanL, vanM y vanN que confieren resistencia a la Vancomicina (Khan et al., 2022).

### **4.3. Diagnóstico de infecciones de vías urinarias**

El diagnóstico de infecciones de vías urinarias se realiza mediante el examen general de orinal el cual implica un conteo mayor o igual de 5 glóbulos blancos en un campo de alta potencia acompañada de bacterias, la presencia de esterasa leucocitaria y nitritos en la tira reactiva en una orina recolectada adecuadamente sin contaminación. El número absoluto de glóbulos blancos visto en una muestra con células epiteliales limitadas es útil ya es una referencia a la calidad de la de esta manera como siguiente paso se realiza el cultivo, el cual confirma el diagnóstico (Dubbs & Sommerkamp, 2019).

#### **4.2.1. Urocultivo**

Es el método estándar para el diagnóstico de infecciones del tracto urinario por lo general se utilizan medios selectivos y no selectivos como el agar sangre de cordero al 5%, agar MacConkey y EMB. La inoculación de las placas es realizada mediante asa calibrada la cuales se siembra por estrías de modo que se pueda realizar el recuento semicuantitativo de colonias después de la inoculación. El criterio más utilizado para determinar si se debe realizar la identificación mediante pruebas bioquímica y el antibiograma de aislamiento determinado es el recuento de colonias mayor 10.000 unidades formadoras de colonias. En el caso de que aislen especies múltiples el director de laboratorio debe decidir si se efectúan o no las pruebas de identificación y antibiograma (Koneman et al., 2017).

#### **4.2.2. Antibiograma por disco difusión**

También conocido como método de Kirby Bauer es un método para analizar la actividad inhibitoria de los diferentes antibióticos frente a las bacterias. El principio básico del método de difusión en discos consiste en la inoculación de placas de muller hinton o muller hinton enriquecido con 5% de agar sangre a una escala de 0,5 MacFarland sobre la cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico y se incuban a una

temperatura de 34.5 °C a 35° durante 18 o 24 horas. Tan pronto como el disco impregnado en el antibiótico entra en contacto con la superficie de agar húmeda, se absorbe agua en el papel de filtro y el antibiótico se difunde en el medio circundante. La velocidad de extracción del antibiótico del disco es mayor que su difusión hacia afuera en el medio, de modo que la concentración inmediatamente adyacente al disco puede exceder la del disco propiamente dicho. Sin embargo, a medida que aumenta la distancia desde el disco, existe una reducción logarítmica en la concentración del antibiótico. Los puntos en los cuales se alcanza la masa celular crítica aparecen como un círculo bien demarcado de crecimiento bacteriano, con el centro del disco formando el centro del círculo si la prueba se ha realizado de manera correcta. El tamaño de la zona observada en un antibiograma por difusión con discos no tiene significado por sí solo. Los estándares de interpretación provistos por el CLSI se obtienen a partir de una correlación entre los tamaños de la zona (Koneman et al., 2017).

#### **4.4. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia**

##### ***4.4.1. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gram negativos.***

**4.4.1.1. Detección fenotípica de  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA);** la detección fenotípica de las BLEA no es de mayor complejidad ya que generalmente las betalactamasas de tipo BLEA presentarán resistencia a aminopenicilinas como la ampicilina manteniendo sensibilidad a cefalosporinas de primera generación como la cefazolina, y también serán sensible a la combinación betalactámicos con inhibidor (Abusamra et al., 2019).

**4.4.1.2. Detección fenotípica de  $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT, OXA-1);** las enzimas de tipo IRT y OXA-1 presentan un fenotípico similar a excepción de que las enzimas tipo OXA-1 presentan una sensibilidad disminuida al cefepime además es posible observar sinergia entre el ácido clavulánico y cefepime siendo muy característico de las enzimas de tipo OXA-1. Por otra parte, las enzimas IRT siguen siendo susceptibles a las cefalosporinas de espectro reducido y extendido, cefamicinas, y, en la mayoría de los casos, piperacilina-tazobactam. Sin embargo, son resistentes a ampicilina/sulbactam e intermedia o resistente a amoxicilina/clavulanato (Tooke et al., 2019).

#### **4.4.1.3. Detección fenotípica de $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC;**

**4.4.1.3.1. Fenotipo AmpC inducible;** en el antibiograma se puede evidenciar el carácter inducible de esta betalactamasa mediante la aproximación de discos. La prueba consiste en situar un disco con un betalactámico no inductor, pero sustrato de AmpC (cefotaxima, ceftazidima, aztreonam) cercano a un betalactámico inductor fuerte (cefoxitina, ácido clavulánico). El achatamiento del halo del betalactámico sustrato (inducción) en la zona adyacente al del inductor demuestra la expresión inducible de la  $\beta$ -lactamasa. El fenotipo de AmpC inducible permitirá observar resistencia aminopenicilinas, cefalosporinas de primera generación y cefoxitina (Meini et al., 2019).

**4.4.1.3.2. Fenotipo AmpC desreprimida;** el aislamiento presentara resistencia a penicilinas, asociaciones de  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasa, cefalosporinas de primera, de segunda y tercera generación además de cefamicinas sin embargo presentará sensibilidad a cefepime y carbapenémicos (Meini et al., 2019).

**4.4.1.3.3. Fenotipo AmpC plasmídica;** se debe sospechar de la presencia de una enterobacteria productora de AmpC plasmídica el fenotipo de sensibilidad disminuida o resistencia amoxicilina/ácido clavulánico y cefalosporinas de tercera generación. Por ello se podrá realizar una prueba de sinergia de doble disco la cual consiste en situar un disco de ácido borónico próximo a un disco de cefotaxima de manera que la producción de la enzima se demuestra por la ampliación del halo de inhibición por la acción del inhibidor (Meini et al., 2019).

**4.4.1.4. Detección fenotípica de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE);** uno de las pruebas más realizadas la de doble disco la consiste en la colocación de disco de amoxicilina/ácido clavulánico entre los discos de cefotaxima y ceftazidima a 25 mm de separación de centro a centro, el agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de CTX o CAZ en las proximidades del disco de AMC confirma la presencia de una BLEE. También un método confirmatorio que consiste en comparar los halos de inhibición de una cefalosporina de tercera o de cuarta generación solas y combinadas con ácido clavulánico de manera que un aumento de  $\geq 5$  mm en el diámetro de una zona para cualquiera de los agentes antimicrobianos probados en combinación con clavulánico frente al diámetro de la zona del agente cuando se prueba solo es indicativo de la presencia de BLEE (Kazemian et al., 2019).

#### **4.4.1.5. Detección fenotípica de Carbapenemasas**

**4.4.1.5.1. KPC (clase A);** la detección fenotípica de estas carbapenemasas se realiza mediante meropenem solo y meropenem suplementado con ácido etilendiamina tetraacético (EDTA). La prueba consiste en colocar en placas de agar un disco de meropenem que no se complementa con ninguno de los inhibidores (PBA y EDTA) y un disco de meropenem suplementado con 292 µg de EDTA. La incubación de las placas de agar muller hinton se realiza a 37°C durante 18-24 horas. Un aumento en el diámetro de la zona de inhibición en cualquiera de los discos de meropenem suplementados con EDTA en  $\geq 5$  mm se considera positivo para la producción de carbapenemasas de *Klebsiella Pneumoniae* (Aruhomukama, 2020).

**4.4.1.5.2. Metallo-β-lactamasas (clase B);** se caracterizan por no hidrolizar monobactámicos como el aztreonam, pero si se inhiben por quelantes de zinc como el EDTA. En el método imipenem-EDTA, la prueba consiste en inocular el organismo u organismos de ensayo en agar Mueller-Hinton para el método de difusión estándar. Esto es seguido por la adición a las placas de agar dos discos imipenem (10µg) disponibles comercialmente, uno de los discos no suplementado con EDTA y otro complementado con EDTA a una distancia de 15 mm de centro a centro, posteriormente se realiza la incubación de la placa de muller hinton se realiza a 35°C durante 18-24 horas. Para la lectura se mide los diámetros de la zona de inhibición del disco de imipenem suplementado con EDTA y se compara con el diámetro de la zona de inhibición del disco de imipenem no suplementado y un aumento en el diámetro de la zona de inhibición de  $\geq 5$  mm en el disco suplementado con EDTA se interpreta como positivo para la producción de metalo-β-lactamasa (Tamma & Simner, 2018).

**4.4.1.5.3. Tipo OXA-48 (clase D);** su fenotipo describe susceptibilidad a cefalosporinas de tercera y de cuarta generación, pero resistencia a carbapenemes y elevada resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico y a piperacilina/tazobactam. Para su detección se utiliza el disco de meropenem el cual se coloca en una placa de agar inoculada con una bacteria indicadora susceptible de *Escherichia coli* y se incuba durante al menos 8 h. Si hay una carbapenemasa, la actividad del disco de meropenem se inactivará, permitiendo el crecimiento desinhibido de la *Escherichia coli* susceptible. Sin embargo existen otros métodos más específicos para la carbapenemasas OXA-48 (Pitout et al., 2019).

#### **4.4.2. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia bacteriana en cocos gram positivos**

##### **4.4.2.1. Staphylococcus SPP;**

**4.4.2.1.1. Detección fenotípica de resistencia a la penicilina;** la detección de cepas resistentes a la penicilina por producciones de  $\beta$ -lactamasas mediante la técnica de disco difusión con un disco de 10  $\mu$ g de penicilina en agar muller hinton en un periodo de incubación de 16 a 18 horas a 35°C, se considera sensible aquellas con un halo de inhibición mayor a 29 mm. También se compara si el borde de la zona afilada está en forma “acantilada” o el borde de la zona difusa está en forma de “playa”, ya que de acuerdo a esto se podrá reportar la  $\beta$ -lactamasa negativa o positiva. Para las pruebas e informes adicionales los estafilococos positivos para  $\beta$ -lactamasa son resistentes a la penicilina, amino, carboxi y ureidopenicilinas (Aubry et al., 2020).

**4.4.2.1.2. Detección fenotípica de resistencia a la meticilina;** se puede detectar mediante el procedimiento estándar de difusión en disco en agar muller hinton con un disco de cefoxitina de 30  $\mu$ g en un periodo de incubación de 18 a 24 horas a 33 a 35°C. Los resultados con un diámetro menor o igual 24 mm nos indican positiva la resistencia mediada por *mecA*. Para las pruebas e informes adicionales los aislados que dan positivo para la resistencia mediada por *mecA* deben notificarse como resistentes a la meticilina (oxacilina) (no a la cefoxitina); Otros agentes  $\beta$ -lactámicos, excepto la ceftarolina, deben notificarse como resistentes o no deben notificarse (Abdelmalek et al., 2022).

**4.4.2.1.3. Detección fenotípica de resistencia a MLS;** la resistencia inducible a clindamicina se puede detectar mediante el método de D-Test que consiste en la colocación de un disco de eritromicina, y otro de clindamicina separados a una distancia entre 15 a 20 mm de borde a borde, después de 16 a 18 horas de incubación , el achatamiento del halo de clindamicina del lado que entre el disco de eritromicina (efecto zonda D) indica un fenotipo de resistencia inducible (Assefa, 2022).

#### **4.4.2.2. Enterococos SPP.**

**4.4.2.2.1. Detección fenotípica de resistencia adquirida a  $\beta$ -lactámicos;** las cepas de Enterococos Faecalis producen una  $\beta$ -lactamasa no se detectan cuando se realiza un antibiograma por difusión con discos, ya que la enzima se produce en pequeñas cantidades por ello se utiliza un disco de ampicilina/sulbactam y se compara el diámetro de inhibición con el de un disco de ampicilina de 10  $\mu$ g. Una diferencia > 5 mm puede alertar sobre la presencia de  $\beta$ -lactamasa, que se debe confirmar con la prueba de la nitrocefina (Álvarez et al., 2021)

**4.4.2.2. Detección fenotípica de resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos;** se realiza mediante difusión en disco en la cual se utilizan discos de alta carga, los cuales comprende gentamicina de 120 µg y estreptomina de 300 µg, los cuales se incuban durante 16 a 18 horas en una temperatura de 35°C ±2°C. Los resultados menores a un diámetro de 6 mm nos indican resistencia, de 7 a 9 mm no son concluyentes y necesitan de una prueba CIM, mayor a 10 mm son susceptibles es sinérgico con el agente activo de la pared celular por ejemplo ampicilina, penicilina y vancomicina (Taji et al., 2022).

**4.4.2.3. Detección fenotípica de resistencia adquirida a los glucopéptidos;** para la detección fenotípica se utiliza un disco de vancomicina de 30 µg, posteriormente se incuba la placa durante 24 horas y las zonas deben examinarse utilizando luz transmitida; La presencia de una neblina o cualquier crecimiento dentro de la zona de inhibición indica resistencia. Los organismos con zonas intermedias deben someterse a ensayo mediante un método de CMI (Raza et al., 2018).



## **5. Metodología**

### **5.1. Área de estudio**

El área destinada para la presente investigación es el centro de salud universitario Motupe, ubicado en el Barrio Motupe Bajo, al Norte de la ciudad de Loja a unos 7 Km. de la ciudad, perteneciente a la Parroquia San Juan del Valle.

Las Muestras fueron procesadas en el laboratorio de microbiología y parasitología de la Universidad Nacional de Loja, Facultad de la Salud Humana de la Carrera de Laboratorio Clínico ubicada en las calles Manuel Monteros y Carlos Román.

### **5.2. Procedimiento**

#### ***5.2.1. Enfoque metodológico***

La presente investigación fue diseñada con un enfoque cuantitativo.

#### ***5.2.2. Técnicas***

- Encuestas.
- Técnica de disco difusión.

#### ***5.2.4. Unidad de estudio***

El universo del estudio comprende las pacientes embarazadas que acuden al centro de salud universitario Motupe.

#### ***5.2.5. Muestra y tamaño de la muestra***

Número de muestras de pacientes embarazadas con urocultivo positivo, del centro de salud universitario Motupe.

#### ***5.2.3. Tipo de diseño utilizado***

La presente investigación fue diseñada de tipo descriptiva y no experimental, de corte transversal.

#### ***5.2.6. Tipo de muestreo***

La presente investigación contempla un muestreo simple al azar.

#### ***5.2.8. Criterios de inclusión***

- Muestras de orina de gestantes con diagnóstico de infección de vías urinarias.
- Muestras de orina de gestantes con urocultivo positivo.

#### ***5.2.9. Criterios de exclusión***

- Muestras de orina de gestantes con tratamiento de antibióticos.

- Muestras de orina de gestantes contaminadas.

## 6. Resultados

En base a la investigación realizada, se recolecto 64 muestras de orina de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023, de las cuales 7 tuvieron urocultivo positivo, evidenciándose así 6 de *Escherichia coli* y 1 de *Staphylococcus saprophyticus* para lo cual posteriormente se realizó el antibiograma identificando la resistencia a los antimicrobianos, mecanismo de resistencia y el perfil de susceptibilidad.

En la tabla 1 y 2 observamos la resistencia a los antimicrobianos correspondiente a los agentes etiológicos encontrados en la investigación. El antibiograma determinó que la resistencia de *Escherichia coli* fue de ampicilina en un 50%, amoxicilina/ácido clavulánico 33,33%, ciprofloxacina 16,67%, y trimetoprima/sulfametoxazol 33,33%. Por otra parte, en el caso de *Staphylococcus saprophyticus* fue de 100% para eritromicina, penicilina 100%, oxacilina 100% y cefoxitina 100%.

**Tabla 1**

*Resistencia de antimicrobianos encontrada en Escherichia coli en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023.*

	RESISTENTE	% R.	INTERMEDIO	% I.	SENSIBLE	% S.
AMPICILINA_AMP	3	50,00	2	33,33	1	16,67
CEFAZOLINA_KZ	0	0,00	0	0,00	6	100,00
GENTAMICINA_CN	0	0,00	0	0,00	6	100,00
AMIKACINA_AK	0	0,00	0	0,00	6	100,00
AMOXICILINA/ACIDO CLAVULAMICO_AMC	2	33,33	2	33,33	2	33,33
PIPERACILINA/TAZOBACT AM_TPZ	0	0,00	1	16,67	5	83,33
CEFUROXIMA_CMX	0	0,00	0	0,00	6	100,00
CEFEPIMA_FEP	0	0,00	0	0,00	6	100,00
CEFOXITINA_FOX	0	0,00	0	0,00	6	100,00
CEFTRIAXONA_CRO	0	0,00	0	0,00	6	100,00
ERTAPENEM_ETP	0	0,00	0	0,00	6	100,00
CIPROFLOXACIN_CIP	1	16,67	0	0,00	5	83,33
CEFOTAXIMA_CTX	0	0,00	0	0,00	6	100,00
AZTREONAM_ATM	0	0,00	0	0,00	6	100,00
CEFTAZIDIMA_CAZ	0	0,00	0	0,00	6	100,00
FOSFOMICINA_FF	0	0,00	0	0,00	6	100,00
NITROFURANTOINA_F	0	0,00	0	0,00	6	100,00
TRIMETROPIN/SULFAMET OXAZOL_STX	2	33,33	0	0,00	4	66,67

*Nota.* Sensible (S); Intermedio (I); Resistente (R).

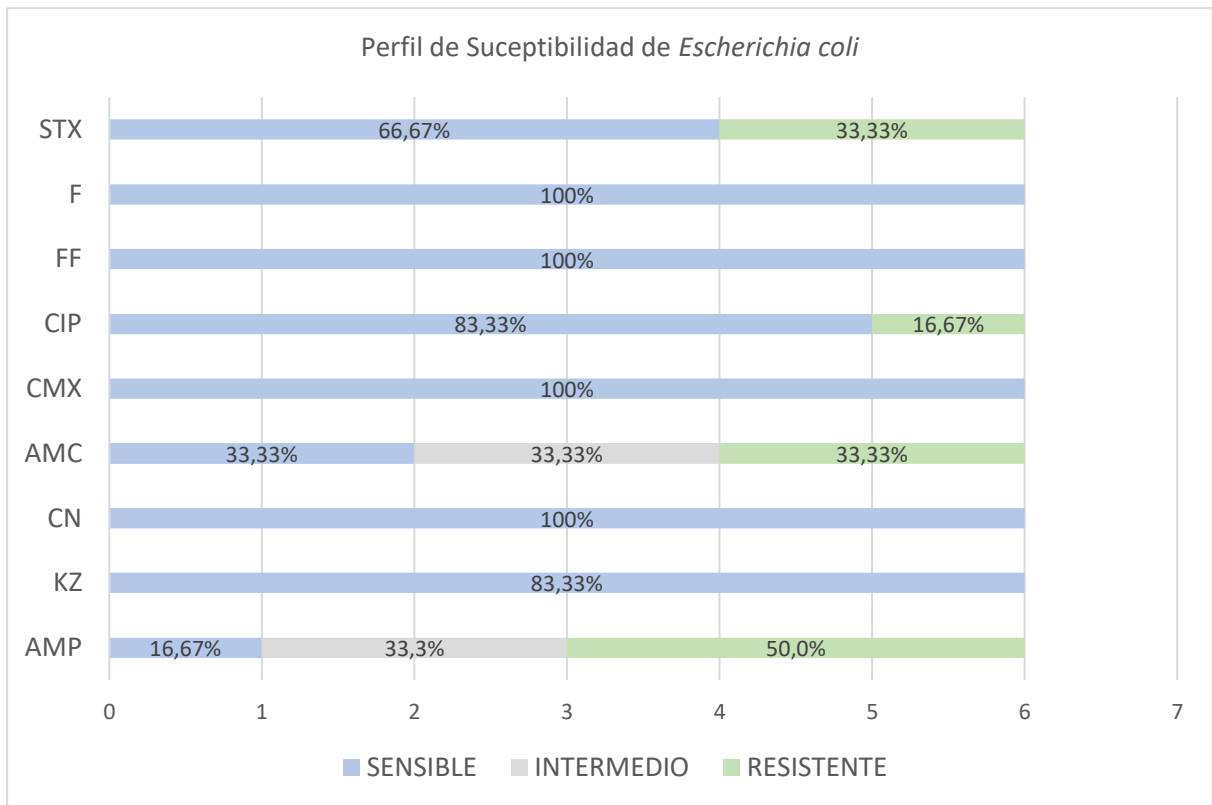
**Tabla 2**

Resistencia de antimicrobianos encontrada en *Staphylococcus saprophyticus* en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023.

	RESISTENTE	% R.	INTERMEDIO	% I.	SENSIBLE	% S.
CLINDAMICINA_DA	0	0	0	0	1	100
ERITROMICINA_E	1	100	0	0	0	0
OXACILINA_OX	1	100	0	0	0	0
CEFOXITIN_FOX	1	100	0	0	0	0
PENICILINA_P	1	100	0	0	0	0
TRIMETROPIN/ SULFAMETOXAZOL_SXT	0	0	0	0	1	100
GENTAMICINA_CN	0	0	0	0	1	100
CIPROFLOXACINO_CIP	0	0	0	0	1	100
NITROFURANTOINA_F	0	0	0	0	1	100

Nota. Sensible (S); Intermedio (I); Resistente (R).

En la figura 1 se observa el perfil de susceptibilidad de *Escherichia Coli*, para lo cual se tomó en cuenta las consideraciones del CLSI, de esta manera se identificó la susceptibilidad con los discos de ampicilina, cefazolina, gentamicina, amoxicilina/ácido clavulánico, cefuroxima, ciprofloxacina, nitrofurantoina, fosfomicina y trimetoprima/sulfametoxazol.

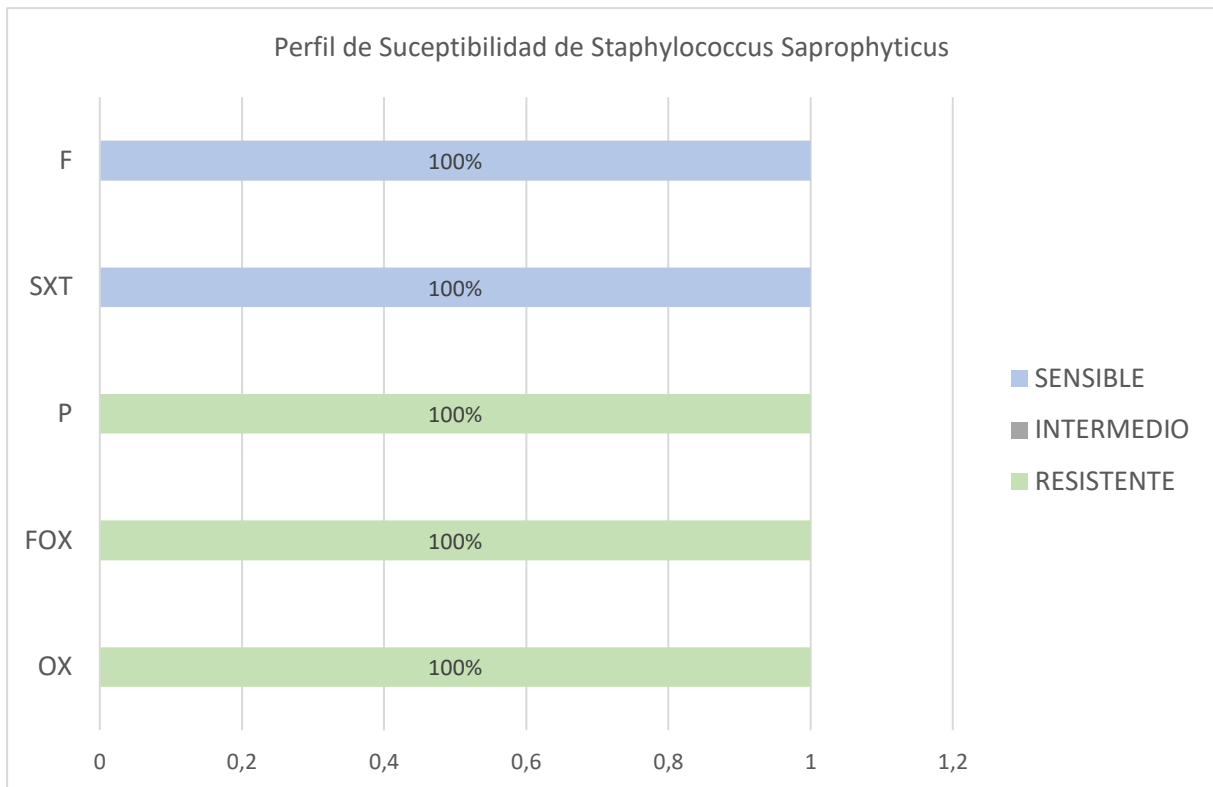


**Figura 1**

*Perfil de susceptibilidad de Escherichia coli en muestras en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023.*

Nota. STX (trimetoprima/sulfametoxazol); F (nitrofurantoina); FF (fosfomicina); CIP (ciprofloxacina); CMX (cefuroxima); AMC (amoxicilina/ácido clavulánico); CN (gentamicina); KZ (cefazolina); AMP (ampicilina).

En la figura 2 se observa el perfil de susceptibilidad de *Staphylococcus saprophyticus*, para lo cual se tomó en cuenta las consideraciones del CLSI, de esta manera se identificó la susceptibilidad con los discos de penicilina, cefoxitina, trimetoprima/sulfametoxazol, y nitrofurantoina.

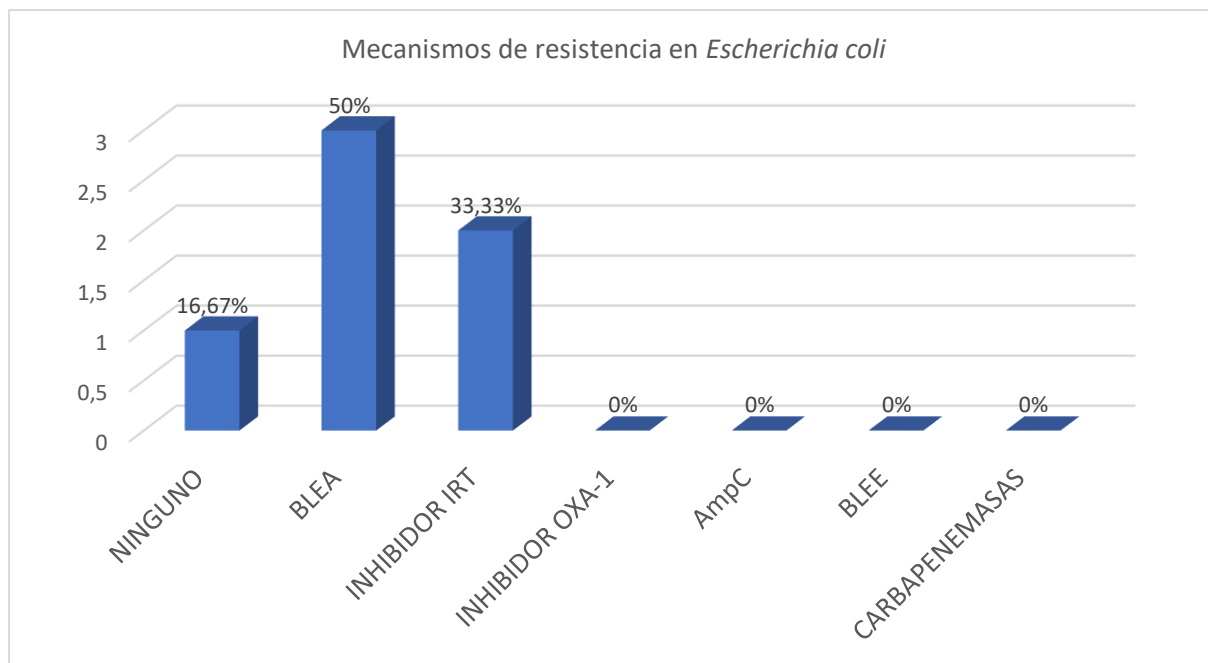


**Figura 2**

*Perfil de susceptibilidad de Staphylococcus saprophyticus en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023.*

Nota. OX (oxacilina); FOX (cefoxitina); P (penicilina); SXT (trimetoprima/sulfametoxazol); F (nitrofurantoina).

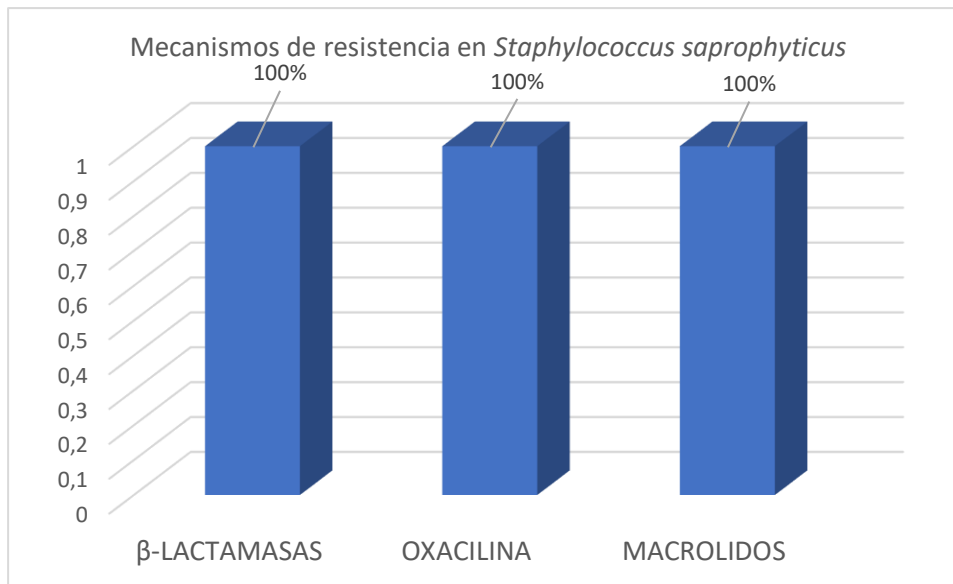
En la figura 3 se observa los mecanismos de resistencia encontrados en *Escherichia Coli* en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023, mediante la fenotipificación en el antibiograma. De esta manera se estableció la presencia de mecanismos de resistencia como  $\beta$ -lactamasas (BLEA) en un 50%,  $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT) en un 33,33% y 16,67% sin la presencia de mecanismo de resistencia.



**Figura 3**

*Mecanismos de resistencia encontrados en Escherichia Coli en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023.*

En la figura 4 se observa los mecanismos de resistencia encontrados en *Staphylococcus Saprophyticus* en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023, mediante la fenotipificación en el antibiograma. De esta manera se estableció la presencia de mecanismos de resistencia como  $\beta$ -lactamasas en un 100%, resistencia a la meticilina en un 100% y macrólidos en un 100%.



**Figura 4**

*Mecanismos de resistencia encontrados en *Staphylococcus saprophyticus* en muestras de orina aisladas de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud de Motupe en el periodo octubre del 2022 a marzo del 2023*



## 7. Discusión

Las infecciones del tracto urinario durante el embarazo son una de las infecciones más frecuentes causadas principalmente por enterobacterias; sin embargo, se pueden encontrar otras especies de bacterias como *enterococos*, *staphylococcus spp* o *estreptococos spp*. La correcta interpretación del antibiograma y la vigilancia de los mecanismos de resistencia permitirá la terapia eficaz y una correcta profilaxis durante el desarrollo de la infección, es por ello que se analizan varios tipos de mecanismos de resistencia, ya que la utilización de fármacos que no demuestran una sensibilidad conduce al fracaso terapéutico y al deterioro de la salud materno fetal.

En base al presente estudio se determinó la resistencia de antimicrobianos en *Escherichia coli* lo cual fue de fue de ampicilina 50%, amoxicilina/ácido clavulánico 33,33%, ciprofloxacina 16,67%, y 33,33% trimetoprima/sulfametoxazol, en contraste con los resultados de (Quintero, 2020) se evidencio resistencia a ampicilina en un 45,4%, y ciprofloxacina 10,5%; (Menéndez & Gonzalez, 2020) reportan resistencia a ciprofloxacino 29,2% y trimetoprima/sulfametoxazol 29,2%; así mismo se presentan resultados similares realizados por (Carchi, 2022) observándose resistencia a ampicilina en un 50%, amoxicilina ácido clavulánico 11,8%, ciprofloxacina 17,6% y trimetoprima/sulfametoxazol 17,6%; (Raraz et al., 2021) reporta resultados diferentes por la presencia de mecanismos de resistencia como AmpC y BLEE por lo cual reporta resistencia a ampicilina en un 93,3%, amoxicilina/ácido clavulánico 23,1%, ciprofloxacino 73,2%, y trimetoprima/sulfametoxazol 92,7%. La resistencia a penicilinas y aminopenicilinas se ve debido a la presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro reducido que inactivan el anillo betalactámico y no permiten que el antimicrobiano actúe, estas enzimas se excretan en el espacio periplásmico donde hidrolizan el antibiótico impidiendo que alcance a las PBP y no actúe bloqueando la síntesis de la pared bacteriana es por ello que se ve la resistencia en ampicilina, las  $\beta$ -lactamasas pueden ser propias de la bacteria o adquiridas a través de plásmidos. En el caso de betalactámicos más inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como la amoxicilina/ácido clavulánico se evidencia debido a la presencia  $\beta$ -lactamasas mutantes de tipo TEM-1, TEM-2 o SHV-1 lo cual les da característica de ser resistente a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, aminopenicilinas y penicilinas, sin embargo, presentan menor acción hidrolítica contra las cefalosporinas de primera generación. La resistencia a quinolonas esta mediada por mutaciones cromosómicas en los genes estructurales de la ADN girasa y en topoisomerasa de tipo IV, de esta manera se modifican sus dianas disminuyendo su afinidad por las quinolonas. Finalmente, la resistencia a sulfamidias y trimetoprima se ve principalmente por la hiperproducción de las enzimas

dihidropteroato sintetasa y dihidrofolato reductasa a las que se unen respectivamente, los dos antimicrobianos existiendo suficiente cantidad de enzima libre para realizar su función fisiológica. La resistencia también puede deberse a genes *dps(sul)* y *dbfr*, que codifican enzimas señaladas con una baja afinidad respecto al antimicrobiano.

En el caso de *Staphylococcus saprophyticus* se demostró la resistencia de eritromicina en un 100%, penicilina 100%, oxacilina 100% y cefoxitina 100%, comparado con estudios de (Tenorio, 2019) se muestra resistencia a penicilina en un 33,33%, eritromicina 33,33%, y oxacilina 100%, sin embargo difieren a la resistencia vista al presente estudio esto debido a la cantidad de muestras aisladas correspondientes a *Staphylococcus saprophyticus* y al periodo de muestreo; (Habteyohannes et al., 2018) evidencia resistencia nitrofurantoina en un 9,09%, trimetoprima/sulfametoxazol 100% y oxacilina 90,90%; (Raraz et al., 2021) en su estudio también encuentra la presencia de betalactamasas confiriéndole resistencia a penicilina en un 100%. La resistencia a penicilinas se debe a la presencia de penicilinasas lo que confiere resistencia a las cepas de *Staphylococcus* que producen  $\beta$ -lactamasa haciéndolas resistentes a penicilinas naturales, aminopenicilinas y carboxipenicilinas. Por otra parte, la resistencia a cefoxitina se ve debido a la presencia mediada del gen *mecA* que codifica la producción de una PBP2 o transpeptidasa de clase B, con escasa afinidad a los  $\beta$ -lactámicos provocando así resistencia a todos los  $\beta$ -lactámicos, incluyendo las penicilinas, combinaciones de  $\beta$ -lactámico con IBL, cefalosporinas y carbapenemes.

Para analizar el perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* y *Staphylococcus saprophyticus* se analizó se utilizó la tabla 1A del manual M100 del CLSI edición 32 lo cual detalla las agrupaciones sugeridas de agentes antimicrobianos aprobados por la administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos para uso clínico que deben considerarse para pruebas e informes sobre organismos no fastidiosos por laboratorios de microbiología en los Estados Unidos. En lo que respecta agentes antimicrobianos que se usa solo o principalmente para tratar infecciones urinarias de *Escherichia coli* pertenecientes al grupo U, se demostró sensibilidad a fosfomicina en un 100%, nitrofurantoina 100%, trimetoprima/sulfametoxazol 66,67% y cefazolina 83,33% por otra parte del grupo A se estableció sensibilidad a ampicilina 16,67% y gentamicina 100%; correlacionándolo con los estudios de (Carchi, 2022) se presenta resultados similares con perfil de susceptibilidad sensible a fosfomicina en un 100%, nitrofurantoina 88,2%, trimetoprima/sulfametoxazol 82,4%, cefazolina 94,1%, ampicilina 47,1% y gentamicina 82,4%; corroborando con los resultados de (Chalan, 2022) se observó sensibilidad a fosfomicina en un 89,5%, nitrofurantoina 73,7%, trimetoprima/sulfametoxazol

57,9%, cefazolina 84,2%, ampicilina 36,8% y gentamicina 68,4%; (Raraz et al., 2021) presenta resultados con un perfil de susceptibilidad sensible a trimetoprima/sulfametoxazol en un 7,3%, cefuroxima 29,6%, ciprofloxacino 20,7%, ampicilina 3,7% y gentamicina 51,2%. Cabe resaltar que según recomendaciones del CLSI la presentación de trimetoprima/sulfametoxazol debe ser por separada y en concentraciones de 250 µg y 5 µg respectivamente, sin embargo, actualmente en América Latina no se dispone de esta presentación por lo cual se utiliza en combinación, por otra parte de acuerdo a las afirmaciones del CLSI, la cefazolina se utiliza como prueba sustituta para predecir los resultados de los agentes orales cefaclor, cefdinir, cefpodoxima, cefprozil, cefuroxima, cefalexina y loracarbef cuando se usan para el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas debidas a *Escherichia coli* sin embargo este no es el caso ya que la infección de vías urinarias en mujeres embarazadas es considerada una infección complicada debido a cambios anatómicos, funcionales o farmacológicos que predisponen a la infección recurrente además de la presencia de mecanismos de resistencia en algunos casos.

Otro de los microorganismos aislados fue *Staphylococcus saprophyticus* el cual mostro un sensibilidad a trimetoprima/sulfametoxazol en un 100%, y nitrofurantoina 100%; en contraste con los resultados de (Espinoza, 2022) se muestran resultados similares con sensibilidad a trimetoprima/sulfametoxazol en 100%; de igual forma (Tenorio, 2019) reporta sensibilidad a nitrofurantoina en 100%. La presencia del gen mecA imposibilita el tratamiento eficaz con algún betalactámico por lo que no son consideradas susceptibles a *Staphylococcus Saprophyticus* resistente a la oxacilina.

De acuerdo con el análisis del fenotipo de resistencia se logró establecer la frecuencia de mecanismos de resistencia en bacterias gram negativas como: β-lactamasas de espectro reducido (BLEA) en un 50%, β-lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT) en un 33,33% y 16,67% sin la presencia de mecanismo de resistencia. Para la determinación de las β-lactamasas de espectro reducido (BLEA) se comprobó mediante la resistencia a aminopenicilinas lo que demostró que las cepas aisladas con este fenotipo llegaron a tener resistencia ampicilina y piperacilina en menor grado sin embargo la bibliografía respalda la susceptibilidad a β-lactámicos más inhibitor y cefalosporinas de primera generación como la cefazolina, no obstante el otro fenotipo descrito en la presente investigación inhibitor (IRT) se caracteriza por presentar resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, resistencia a ampicilina y sensibilidad a cefalosporinas de primera generación. Según estudios de (Quirós & Apolaya, 2018) difieren los resultados por la presencia de (16.3%) de betalactamasas de espectro extendido (BLEE); así mismo se presentan resultados disímiles en los estudios de (Carchi, 2022) y (Chalan, 2022)

donde se observó presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en un (5,26%) en cepas de *Escherichia Coli*. Los resultados difieren por el periodo y cantidad de muestras recolectadas sin embargo actualmente la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), es un fenómeno creciente en la comunidad debido al mal uso previo de antibióticos como terapia empírica especialmente de quinolonas. En América del Sur la prevalencia de BLEE se sitúa en 1% al 10%, por otra parte, los genes que codifican las BLEE se encuentran en elementos móviles como plásmidos, que facilitan su diseminación, estos plásmidos con frecuencia transfieren también resistencia a otros antimicrobianos, como aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas razón por la cual las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son multirresistentes. En lo que respecta a la presencia de resistencia inhibidores (IRT) se estableció la frecuencia del 33,33%; como se mencionó anteriormente se caracterizan por presentar resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, resistencia a ampicilina y sensibilidad a cefalosporinas de primera generación sin embargo algunos autores no las han clasificado debido a que se halla con mucha frecuencia y su interpretación es un poco controversial ya que requiere de métodos moleculares para observar las mutaciones en promotores del gen bla (TEM-1) bla(SHV-1), rara vez se notifican sin embargo es importante entender este tipo de resistencia ya que puede ser de importancia comunitaria e intrahospitalaria ya que la aparición independiente de estas variantes en cepas no relacionadas puede explicarse por la fuerte presión selectiva ejercida por el uso excesivo de betalactámicos más inhibitorios.

Por otro lado, *Staphylococcus saprophyticus* presentó la frecuencia a mecanismos de resistencia como  $\beta$ -lactamasas en un 100%, oxacilina 100%, y macrólidos en 100%. Para la determinación de  $\beta$ -lactamasas en *Staphylococcus* SPP, es necesario un disco de 10  $\mu$ g donde se comprobará la resistencia con un diámetro menor a 29mm y la presencia de  $\beta$ -lactamasas por el borde de la zona afilada ("acantilado"), el resultado positivo para  $\beta$ -lactamasas indicará resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. Por otra parte, según recomendaciones del CLSI, la cefoxitina se utiliza como una prueba sustituta para detectar la resistencia a la meticilina mediada por *mecA* y no se recomienda la prueba de otros agentes  $\beta$ -lactámicos, excepto ceftarolina que actualmente no se dispone en el mercado latinoamericano. La resistencia a cefoxitina mediada por la presencia del gen *mecA* en aislamiento de esta cepa se comprobó según lo recomendado por CLSI. Estudios realizados por (Tenorio, 2019) mostraron resultado disímiles ya que no presentaron resistencia a oxacilina debido a la ausencia del *mecA* debido al tiempo de muestreo y la población escogida; en cambio estudios realizados por (Habteyohannes et al., 2018) reportaron resistencia a oxacilina en un (76,92%) mediada por

presencia del gen *mecA*. Los macrólidos como la eritromicina no se deben reportar en infecciones de tracto urinario ya que su concentración es inferior al 10%, además dado que los antibióticos MLS se excretan principalmente en la bilis, no se utilizan para el tratamiento de las infecciones urinarias por este motivo varios de los mecanismos de resistencia que pudieran estar presentes en la cepa aislada han sido mal documentados debido a que, si bien en aislados de tracto urinario los antibióticos MLS no tienen eficacia terapéutica pueden llegar a presentar mecanismos de resistencia, es por ello que el presente estudio se documentó la presencia de mecanismo de resistencia a macrólidos también conocido como fenotipo M, cabe resaltar que para su detección fenotípica se utilizó el D-Test con un resultado negativo; estudios realizados por (Manandhar et al., 2021) en aislados de estafilococos coagulasa negativos resistentes metilina se observó que el 22,9% de cepas aisladas presentaban resistencia a eritromicina igualmente se observó resultados negativos del D-Test; de igual manera (Tahmasebi et al., 2018) encontró resistencia a eritromicina en aislados de *Staphylococcus saprophyticus* en un (20%). Las resistencias a macrólidos en *Staphylococcus spp*, se debe principalmente por mecanismos de resistencia como eflujo por medio de bombas de expulsión es específico para macrólidos y estreptograminas por lo que la clindamicina no es sustrato de estas bombas de eflujo y, por lo tanto, las cepas con este fenotipo presentarán resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina.

## 8. Conclusiones

- Se determinó mediante el método de Kirby Bauer la resistencia a los agentes antimicrobianos en bacterias aisladas, como *Escherichia Coli* con un porcentaje de resistencia a ampicilina en un 50%, amoxicilina/ácido clavulánico 33,33%, ciprofloxacina 16,67%, y trimetoprima/sulfametoxazol 33,33%. Y *Staphylococcus Saprophyticus* con un porcentaje de resistencia a penicilina en un 100%, oxacilina 100%, cefoxitina 100%, y eritromicina 100%.
- Se identificó la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en bacterias aisladas, como *Escherichia Coli*, la cual mostró sensibilidad a fosfomicina en un 100%, nitrofurantoina 100%, trimetoprima/sulfametoxazol 66,67%, cefazolina 83,33%, ampicilina 16,67% y gentamicina 100%. Y *Staphylococcus Saprophyticus* sensible a trimetoprima/sulfametoxazol en un 100%, y nitrofurantoina en un 100%. El uso de los agentes antimicrobianos considerados susceptibles conduce a la eficacia terapéutica según las directrices del CLSI.
- Finalmente se estableció la frecuencia de los mecanismos de resistencia según el tipo de patrón de resistencia de acuerdo a la especie identificada. En el caso de *Escherichia Coli* se estableció la presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro reducido (BLEA) en un 50%,  $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores (IRT) en un 33,33% y 16,67% sin la presencia de un mecanismo de resistencia. Por otro lado, *Staphylococcus Saprophyticus* mostró mecanismos de resistencia como  $\beta$ -lactamasas en un 100%, oxacilina 100%, y macrólidos 100%.

## **9. Recomendaciones**

- Considerando que la aparición de bacterias multirresistentes es un fenómeno que va en aumento y es una de las principales amenazas de salud pública, se recomienda la realización continua de estudios acerca del tema, como aporte al reforzamiento del control y vigilancia a estos patógenos, especialmente en poblaciones vulnerables como mujeres embarazadas.
- Hacer énfasis en adoptar las técnicas, estándares y pautas dictaminadas por el CLSI en el manual M100, dentro del laboratorio de microbiología para una correcta interpretación del antibiograma y la investigación de los mecanismos de resistencia.
- Sugerir al personal médico que, para el manejo exitoso de una adecuada terapéutica antimicrobiana, deberá ser conducida de manera multidisciplinaria con los departamentos de microbiología, con el objetivo del uso adecuado de la terapéutica de agentes antimicrobianos, teniendo en cuenta la correcta identificación del agente e interpretación del antibiograma para dirigir terapéutica evitando el ascenso de gérmenes multirresistentes.
- Evitar el abuso y la automedicación de los agentes antimicrobianos ya que su mal uso, incrementa los riesgos a desarrollar resistencia bacteriana aumentando así los niveles de mortalidad.

## 10. Bibliografía

- Abdelmalek, S. M. A., Qinna, M. W., Al-Ejlat, R., & Collier, P. J. (2022). Methicillin-Resistant Staphylococci (MRS): Carriage and Antibiotic Resistance Patterns in College Students. *Journal of Community Health*, 47(3), 416-424. <https://doi.org/10.1007/s10900-022-01065-9>
- Abusamra, L., Alfeltra, J., Bermejo, V., & Bissio, E. (2019). *Resistencia microbiana*. Oceano Medicina.
- Al Amara, S. S. M. (2022). Constitutive and Inducible Clindamycin Resistance Frequencies among Staphylococcus sp. Coagulase Negative Isolates in Al-Basrah Governorate, Iraq. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 11(1), 30-35. <https://doi.org/10.52547/rbmb.11.1.30>
- Álvarez, E., Campo, A., García, I., García, M., Cores, O., Galindo, I., Pendones, J., López, A., Belhassen, M., & Pardo, J. (2021). Urinary tract infection caused by Enterococcus spp.: Risk factors and mortality. An observational study. *Revista Clínica Española (English Edition)*, 221(7), 375-383. <https://doi.org/10.1016/j.rceng.2020.09.004>
- Aruhomukama, D. (2020). Review of phenotypic assays for detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases: A microbiology laboratory bench guide. *African Health Sciences*, 20(3), 1090-1108. <https://doi.org/10.4314/ahs.v20i3.11>
- Aspiroz, C., Mama, O. M., Martínez-Álvarez, R. M., Ruiz-Ripa, L., Ceballos, S., & Torres, C. (2020). Bacteriemia por Staphylococcus aureus sensible a penicilina. Importancia epidemiológica, clínica y posibles implicaciones terapéuticas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38(9), 434-437. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2019.12.003>
- Assefa, M. (2022). Inducible Clindamycin-Resistant Staphylococcus aureus Strains in Africa: A Systematic Review. *International Journal of Microbiology*, 2022, 1835603. <https://doi.org/10.1155/2022/1835603>
- Aubry, B., Lemarié, C., Chenouard, R., Kempf, M., Eveillard, M., & Pailhoriès, H. (2020). Performance of penicillinase detection tests in Staphylococcus epidermidis: Comparison of different phenotypic methods. *BMC Microbiology*, 20, 240. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01929-x>
- Carchi, M. B. (2022). *Fenotipificación de resistencia bacteriana en agentes etiológicos de infección de vías urinarias en pacientes embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe* [BachelorThesis, Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/25926>
- Carroll, K., Morse, S., Mietzner, T., & Miller, S. (2016). *Jawetz, Melnick, & Adelberg Microbiología Médica* (27a. edición). McGraw-Hill Education.
- Chalan, D. M. (2022). *Identificación de agentes etiológicos y antibiograma en urocultivos de embarazadas que acuden al Centro de Salud N°1 de Loja* [BachelorThesis, Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/25431>



- Chu, C. M., & Lowder, J. L. (2018). Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 219(1), 40-51. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.12.231>
- Dubbs, S. B., & Sommerkamp, S. K. (2019). Evaluation and Management of Urinary Tract Infection in the Emergency Department. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 37(4), 707-723. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2019.07.007>
- Durão, P., Balbontín, R., & Gordo, I. (2018). Evolutionary Mechanisms Shaping the Maintenance of Antibiotic Resistance. *Trends in Microbiology*, 26(8), 677-691. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.01.005>
- Espinoza, Y. L. (2022). *Identificación de agentes patógenos causantes de infecciones en vías urinarias en mujeres embarazadas con patrones de resistencia antimicrobiana*. [MasterThesis, Universidad Técnica de Ambato/Facultad de Ciencias de la Salud/Centro de Posgrado]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/36389>
- Gagetti, P., Bonofiglio, L., García Gabarrot, G., Kaufman, S., Mollerach, M., Vigliarolo, L., von Specht, M., Toresani, I., & Lopardo, H. A. (2019). Resistance to  $\beta$ -lactams in enterococci. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(2), 179-183. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.01.007>
- García, M., & Rice, L. B. (2019). The Enterococcus: A Model of Adaptability to Its Environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), e00058-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>
- Habak, P. J., & Griggs, J. (2022). Urinary Tract Infection In Pregnancy. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537047/>
- Habteyohannes, A. D., Mekonnen, D., Abate, E., Tadesse, S., Birku, T., & Biadlegne, F. (2018). Bacterial isolates and their current drug susceptibility profile from urine among asymptomatic pregnant women attending at a referral hospital, northwest ethiopia; cross-sectional study. *Ethiopian Journal of Reproductive Health*, 10(2), Article 2.
- INEC. (2020). *Estadísticas Vitales Registro Estadístico de Defunciones Generales de 2020*. INEC. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion\\_y\\_Demografia/Defunciones\\_Generales\\_2020/2021-06-10\\_Principales\\_resultados\\_EDG\\_2020\\_final.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Defunciones_Generales_2020/2021-06-10_Principales_resultados_EDG_2020_final.pdf)
- Íñigo, M., & Pozo, J. L. D. (2022). Treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacterales. *Revista Española de Quimioterapia*, 35(Suppl 3), 46-50. <https://doi.org/10.37201/req/s03.11.2022>
- Kazemian, H., Heidari, H., Ghanavati, R., Ghafourian, S., Yazdani, F., Sadeghifard, N., Valadbeigi, H., Maleki, A., & Pakzad, I. (2019). Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Isolates. *Medical Principles and Practice*, 28(6), 547-551. <https://doi.org/10.1159/000500311>

- Khan, A., Miller, W. R., Axell, D., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing for Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(9), e00843-21. <https://doi.org/10.1128/jcm.00843-21>
- Koneman, E., Procop, G., Churchill, D., Hall, G., Janda, W., Woods, G., & Schreckenberger, P. (2017). *Koneman Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas*. Panamericana.
- Kopotsa, K., Osei Sekyere, J., & Mbelle, N. M. (2019). Plasmid evolution in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: A review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1457(1), 61-91. <https://doi.org/10.1111/nyas.14223>
- Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
- Manandhar, S., Singh, A., Varma, A., Pandey, S., & Shrivastava, N. (2021). Phenotypic and genotypic characterization of biofilm producing clinical coagulase negative staphylococci from Nepal and their antibiotic susceptibility pattern. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00447-6>
- Martínez, M., Herrera, K., Hernández, Á. A., Leyva, A., & Figueroa, Y. T. (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*, 77, 47-55.
- Meini, S., Tascini, C., Cei, M., Sozio, E., & Rossolini, G. M. (2019). AmpC  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacterales: What a clinician should know. *Infection*, 47(3), 363-375. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01291-9>
- Menéndez, G. J., & Gonzalez, Y. A. (2020). *Perfil de susceptibilidad de Escherichia coli aislada de infección del tracto urinario asociado a factores de riesgo en mujeres embarazadas del centro de salud Puerto López, 2019*. <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/2200>
- MSP. (2018). *Instituto Nacional De Investigación En Salud Pública Reporte De Datos De Resistencia A Los Antimicrobianos En Ecuador 2014-2018* (p. 10). Ministerio de Salud Pública. [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta\\_ram2018.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf)
- Pitout, J. D. D., Peirano, G., Kock, M. M., Strydom, K.-A., & Matsumura, Y. (2019). The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1), e00102-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-19>
- Quintero, J. F. (2020). *Perfil de resistencia antimicrobiana en infección del tracto urinario de embarazadas atendidas en una institución de la ciudad de Cartagena entre los años 2018 y 2019* [Universidad de Cartagena]. <https://hdl.handle.net/11227/11060>
- Quirós, A. L., & Apolaya, M. (2018). Prevalencia de infección de la vía urinaria y perfil microbiológico en mujeres que finalizaron el embarazo en una clínica privada de Lima, Perú. *Ginecología y obstetricia de México*, 86(10), 634-639. <https://doi.org/10.24245/gom.v86i10.2167>

- Raraz, J., Allpas, H., & Raraz, O. (2021). Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* y *Staphylococcus saprophyticus* en la infección urinaria de un hospital público. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 61(4), Article 4.
- Raza, T., Ullah, S. R., Mehmood, K., & Andleeb, S. (2018). Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 68(5), 768-772.
- Tahmasebi, H., Dehbashi, S., & Arabestani, M. R. (2018). Determination of Antimicrobial Resistance Pattern in Methicillin-Resistant *Staphylococcus saprophyticus* and *Staphylococcus epidermidis* and Detection of Resistance Genes to Clindamycin and Erythromycin. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 12(3), 169-178. <https://doi.org/10.30699/ijmm.12.3.169>
- Taji, A., Heidari, H., Shahini-Shamsabadi, M., & Motamedifar, M. (2022). High-Level Resistance to Aminoglycosides Among Multidrug Resistant Non-faecalis and Non-faecium Enterococci. *Clinical Laboratory*, 68(9). <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2022.220222>
- Tamma, P. D., & Simner, P. J. (2018). Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(11), e01140-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.01140-18>
- Tenorio, R. A. (2019). *Resistencia Antibiótica en Gestantes con Infección Urinaria. Hospital Provincial General Docente Riobamba 2017-2018* [BachelorThesis, UUniversidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6091>
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019).  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472-3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Torres, C., Alonso, C. A., Ruiz, L., León, R., Del Campo, R., & Coque, T. M. (2018). Antimicrobial Resistance in Enterococcus spp. Of animal origin. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 6.4.24. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0032-2018>
- Tudela, P., Molinos, S., Esquerrà, A., & Carreres, A. (2019). Bacteriuria asintomática en urgencias. Una causa frecuente de error diagnóstico. *Medicina Clínica*, 152(1), 29-32. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.05.018>

## 11. Anexos

### Anexo 1. Solicitud a la directora de la carrera para aprobación del trabajo de integración curricular.



UNL

Universidad  
Nacional  
de Loja

Facultad  
de la Salud  
Humana

Loja, 10 de agosto de 2022

Señora Doctora  
Sandra E. Freire Cuesta  
**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
Ciudad.

De mi consideración:

Por medio del presente me permito dar contestación al Of. Nro. 2022-0592-CLC-FSH-UNL de 3 de agosto de 2022, donde se me pide que emita el informe de estructura y coherencia del proyecto de Tesis denominada **"DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA EN MUESTRAS DE ORINA EN PACIENTES EMBARAZADAS DEL CENTRO DE SALUD UNIVERSITARIO MOTUPE"** de autoría del señor Mario José Aguilar Albito.

Habiéndose realizado las correcciones pertinentes, considero que se puede otorgar la **ESTRUCTURA Y COHERENCIA** del mismo, para que continúe con los trámites correspondientes.

Particular que comunico a usted, para los fines legales pertinentes.

Atentamente,

ILIANA  
ALICIA  
DELGADO  
Lic. Iliana Alicia Delgado  
**DOCENTE OCASIONAL**

Firmado digitalmente  
por ILIANA ALICIA  
DELGADO  
Fecha: 2022.08.11  
11:14:46 -05'00'

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



**UNL**

Universidad  
Nacional  
de Loja

Facultad  
de la Salud  
Humana

### CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Of. Nro. 2022-0845-CLC-FSH-UNL  
Loja, 11 de noviembre de 2022.

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

#### De mi consideración:

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Directora del trabajo de Integración Curricular, titulado: **“DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA EN MUESTRAS DE ORINA EN PACIENTES EMBARAZADAS DEL CENTRO DE SALUD UNIVERSITARIO MOTUPE”**, de autoría del Sr. **MARIO JOSÉ AGUILAR ALBITO**, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Aprovecho la oportunidad para expresarle mi agradecimiento por su colaboración.

Atentamente,



Firmada electrónicamente por:  
**SANDRA  
ELIZABETH  
FREIRE CUESTA**

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

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

### Anexo 3. 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

MEMORANDO Nro. UNL-FSH-D-2023-026  
Loja, 11 de enero de 2023.

**PARA:** Sr. Mario José Aguilar Albito  
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**ASUNTO:** Autorización uso laboratorios Microbiología y Parasitología FSH UNL

En atención a comunicación de 11 de enero de 2023, en mi calidad de Autoridad Académica de esta Facultad, en el marco del trabajo de integración curricular denominado: "DETECCIÓN FENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA EN MUESTRAS DE ORINA EN PACIENTES EMBARAZADAS DEL CENTRO DE SALUD UNIVERSITARIO MOTUPE", autorizo el uso de los laboratorios de Microbiología y Parasitología para el procesamiento de muestras y análisis conforme corresponda, bajo la asesoría de la Lcda. Iliana Alicia Delgado.

De la misma manera, autorizo a la Lcda. Silvia Molina Carrión, Responsable del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, brinde el apoyo requerido por el Sr. Aguilar Albito.

Loja, 11 de enero de 2023.

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



Firmado electrónicamente por:  
**SANTOS AMABLE  
BERMEO FLORES**

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

Cc: Dirección Laboratorio Clínico, Lcda. Iliana Delgado, Lcda. Silvia Molina, Archivo.

ABF/ Yadira Córdova.  
ANALISTA DE DESPACHO DE AUTORIDAD ACADÉMICA

## Anexo 4. Certificación de traducción de resumen a idioma inglés.



Av. Orillas del Zamora 93-94 entre  
Segundo Puertas Moreno y Clodoveo Carrión  
Loja, Ecuador

Tel- +593 - 7 - 2579-934 EC  
Mobil: +593 - 9 - 9866 - 0001  
www.weiloja.edu.ec

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: “Detección fenotípica de mecanismos de  
resistencia bacteriana en muestras de orina en pacientes embarazadas del  
Centro de Salud Universitario Motupe”**

para: **AGUILAR ALBITO MARIO JOSÉ**

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.

FREDDY PAUL CASTILLO HOYOS  
FREDDY PAUL CASTILLO HOYOS  
2023.03.22  
19:29:37 -05'00'

Firmado en Loja a los veintidos días del mes de marzo de 2023



## Anexo 5. Consentimiento Informado.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

Fecha: .....

Datos del Paciente: .....

Número de cédula: .....

Semanas de gestación: .....

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

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

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

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

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

#### **DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS**

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna; en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente que, he facilitado la información completa hasta mi conocimiento sobre mi estado de salud; que he sido informado de manera clara y sencilla por parte de la investigadora, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se ha propuesto; que está claro, que mi participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de orina y fluido vaginal para que sea procesada y no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.



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

Que bajo ningún aspecto se me ha ofrecido ni prendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto. Que puedo retirarme del proyecto en caso de considerar que el mismo ya no es de mi interés o conveniencia.

#### **NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Fecha:** .....

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

#### **REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

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

---

**Nombre, firma y número de  
célula del paciente**

---

**Nombre, firma y número de  
célula del testigo**

## **Anexo 6. Protocolo de preparación para la toma de muestra de orina e indicaciones previas a la paciente**



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




### **INDICACIONES PARA UNA TOMA DE MUESTRA ADECUADA DE ORINA:**

1. Antes de recolectar la orina es necesario efectuar un aseo de los genitales con agua y jabón; y, un aclarado posterior con abundante agua, para evitar la contaminación de la orina con restos de jabón.
2. Posteriormente recolectar el chorro intermedio de la primera orina de la mañana en un recipiente nuevo estéril. Para obtener el chorro intermedio es necesario iniciar orinando en la taza del baño para desechar la primera porción, sin interrumpir la micción recolectar la orina intermedia directamente en el frasco de recolección, tapar el frasco y terminar de orinar en la taza del baño.
3. No recolectar en cualquier frasco de plástico o vidrio reutilizable como por ejemplo frascos de mayonesa, mermelada o cualquier otro diferente al de uso clínico.
4. Entregar al laboratorio antes de que transcurra una hora de la recolección de la orina (Esto evita contaminación y alteraciones de la muestra).
5. Informar al laboratorio si está tomando vitaminas o medicamentos.



## Anexo 7. Registro de temperaturas de equipos utilizados

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de la Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b>  <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros  Telf: 072 57 13 79</p>	<b>CONTROL DE TEMPERATURA DE CONGELADOR Y REFRIGERADORA.</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001 <b>N° páginas:</b> 3
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		

### CONTROL DE TEMPERATURA DE CONGELADOR Y REFRIGERADORA

#### OBJETIVO

Observar las condiciones de almacenamiento de los medios de cultivo y de reactivos utilizados en el presente estudio.

#### ALCANCE

Proveer información práctica y aplicable para la ejecución de procedimientos estandarizados dentro del laboratorio de microbiología.

#### RESPONSABLE

Tesista a cargo del trabajo de integración curricular.

#### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS


- Refrigeradora
- Congelador

Registro de Temperatura del Congelador																														
Rango: -18°C a 0°C																														
Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperatura:																														
Responsable:																														
Elaborado por:																														

Registro de Temperatura de Refrigeradora																														
Rango: 4°C a 8°C																														
Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperatura:																														
Responsable:																														
Elaborado por:																														

Elaborado por:	Mario J. Aguilar Albito	
Revisado y aprobado por:	Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc.	

## Anexo 8. Protocolo de preparación de agar Müller Hinton.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>PREPARACIÓN DE MEDIO MUELLER HINTON.</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 3

### PROCOLO DE PREPARACIÓN DE MEDIO MUELLER HINTON”

#### DEFINICIÓN

El agar Mueller-Hinton es el medio utilizado para realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en microorganismos aeróbicos por el método de Kirby-Bauer. (Périllaud et al., 2019).

#### ALCANCE

Proveer información práctica y aplicable para la ejecución de procedimientos estandarizados dentro del laboratorio de microbiología.

#### RESPONSABLE

Tesista a cargo del trabajo de integración curricular.

#### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Medio Mueller-Hinton.
- Balanza electrónica
- Agua destilada
- Paletas
- Cajas Petri
- Cocineta eléctrica
- Vaso precipitado
- Autoclave

#### PROCEDIMIENTO

1. Suspender 38,0 gramos en 1000 ml de agua purificada/destilada.
2. Calentar a ebullición para disolver el medio por completo.

3. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs) de presión durante 15 minutos.
4. Enfriar a 45-50°C.
5. Mezclar bien y verter en recipientes estériles placas petri.

## CONTROL DE CALIDAD

**Apariencia:** polvo fluido homogéneo de crema a amarillo

**Gelificante:** firme, comparable con gel de agar al 1,7%.

**Color y claridad del medio preparado:** gel de color ámbar claro transparente a ligeramente opalescente en placas de Petri.

**Reacción:** reacción de solución acuosa al 3,8 % p/v a 25 °C. pH: 7,3±0,1

**pH:** 7.20-7.40

### Respuesta del cultivo.

Características de cultivo observadas después de una incubación a 35 - 37°C durante 18 - 24 horas.

Organismo	Inoculo (CFU)	Crecimiento	Recuperar
Escherichia coli ATCC 25922	50-100	Exuberante	>= 70%
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC 25923	50-100	Exuberante	>=70%

### Almacenamiento y vida útil

Almacenar entre 10-30 °C en un recipiente bien cerrado y el medio preparado a 4-8 °C. Utilizar antes de la fecha de caducidad de la etiqueta. Al abrir, el producto debe almacenarse adecuadamente seco, después de tapar bien la botella para evitar la formación de grumos debido a la naturaleza higroscópica del producto. El almacenamiento inadecuado del producto puede provocar la formación de grumos. Almacene en un área seca y ventilada protegida de temperaturas extremas y fuentes de ignición Selle el recipiente herméticamente después de su uso. El rendimiento del producto es mejor si se usa dentro del período de vencimiento indicado (Périllaud et al., 2019).

### BIBLIOGRAFÍA


Périllaud, C., Pilmis, B., Diep, J., Péan de Ponfilly, G., Vidal, B., Couzigou, C., Mizrahi, A., Lourtet-Hascoët, J., Le Monnier, A., & Nguyen Van, J.-C. (2019). Prospective evaluation of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on Mueller-Hinton rapid-SIR

directly on blood cultures. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 93(1), 14-21.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.07.016>

Elaborado por:	Mario J. Aguilar Albito	
Revisado y aprobado por:	Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc.	



## Anexo 9. Protocolo para realización del control de calidad cepas ATCC.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>PROTOCOLO PARA REALIZACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD CEPAS ATCC.</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 3

### DEFINICIÓN

Los microorganismos conocidos como cepas ATCC están previstos para uso como controles para verificar el funcionamiento de análisis, reactivos o medios de cultivo destinados a pruebas microbianas para la detección e identificación de cultivos de microorganismos.

### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Medio de Agar Müller Hinton.
- Refrigeradora
- Incubadora
- Discos de inhibición
- Regla
- Manual M100

### ALCANCE

Proveer información práctica y aplicable para la ejecución de procedimientos estandarizados dentro del laboratorio de microbiología.

### RESPONSABLE

Tesista a cargo del trabajo de integración curricular.

### PROCEDIMIENTO


1. Posteriormente de incubar las placas con las cepas control Escherichia Coli ATCC® 25922 y Staphylococcus aureus ATCC® 25923 en un periodo de 18 a 24 horas a una temperatura de 35°C, preparar el inculo a escala 0,5 MacFarland.
2. Realizar la inoculación de las placas con las cepas control Escherichia Coli ATCC® 25922 y Staphylococcus aureus ATCC® 25923.
3. Después de 10 minutos realizar la colocación de los discos tomando en cuenta un máximo de 12 discos en una placa de 150 mm y no más de 6 discos en una placa de 100 mm.

4. Una vez dispensados los discos en las placas se procede a incubarlas nuevamente durante 18 a 24 horas.
5. Retirar las placas de la incubadora a las 18 o 24 horas y medir el diámetro de las zonas de inhibición completa de centro a centro por cada disco.
6. Comparar el diámetro de inhibición de cada disco con los rangos de control de calidad de difusión para organismos no fastidiosos y agentes antimicrobianos, cuadro 4A1 y cuadro 4A2 del manual M100 edición 32.

**Plantilla de Colocación de Discos**

Elaborado por:	Mario J. Aguilar Albito	
Revisado y aprobado por:	Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc.	

## Anexo 10. Técnica De Kirby Bauer.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>TECNICA DE KIRBY BAUER</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 2

### DEFINICIÓN

La difusión en disco es un método para analizar la actividad inhibitoria de los diferentes antibióticos frente a las bacterias.

### OBJETIVO

Estandarizar el procedimiento de disco difusión tomando en cuenta las observaciones del CLSI.

### ALCANCE

Proveer información práctica y aplicable para la ejecución de procedimientos estandarizados dentro del laboratorio de microbiología.

### RESPONSABLE

Tesista a cargo del trabajo de integración curricular.

### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Medio de Agar Müller Hinton.
- Refrigeradora
- Incubadora
- Discos de inhibición
- Hisopos Estériles
- Manual M100
- Tubos de 10 ml
- Agua destilada

### ALCANCE

Proveer información práctica y aplicable para la ejecución de procedimientos estandarizados dentro del laboratorio de microbiología.


### RESPONSABLE

Tesista a cargo del trabajo de integración curricular.

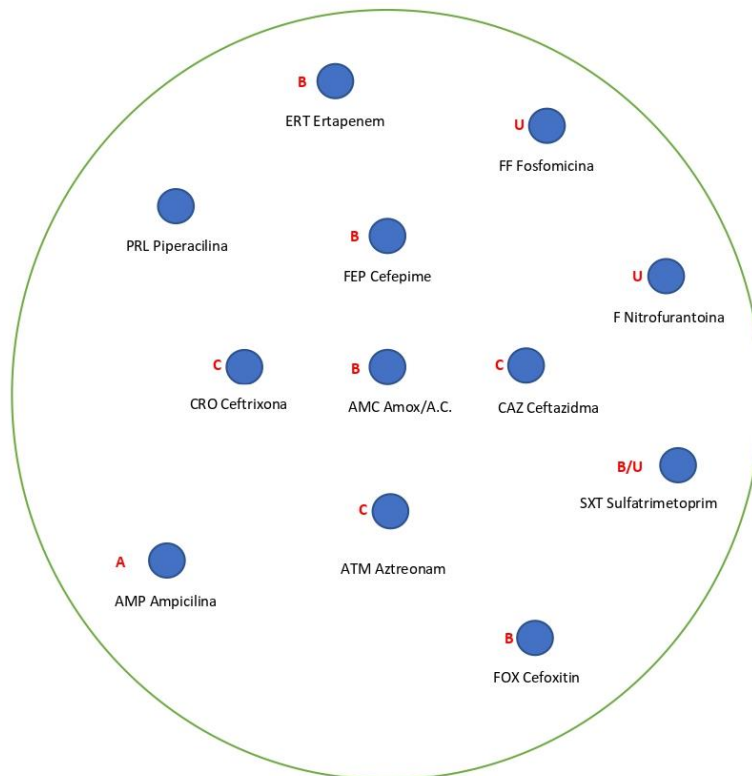
## **PROCEDIMIENTO**


1. Dispensar 4ml de agua destilada en tubos de vidrio de 10 ml.
2. Auto clavar los tubos con el agua destilada durante 15 minutos a 120°C.
3. Dejar enfriar los inóculos esterilizados
4. Agarrar una colonia aislada de la placa de agar sangre.
5. Suspender el hisopo en el inóculo mezclando la muestra homogéneamente en el tubo.
6. Agarrar un nuevo hisopo y suspenderlo en el tubo.
7. Realizar el plateado de la placa en tres direcciones sin dejar ninguna zona libre.
8. Dejar secar de 3 a 5 min antes de depositar los discos.
9. Colocar los discos presionando ligeramente sobre el agar y flamear la pinza cada vez que se deposite cada disco.
10. Los discos deben ser distribuidos de forma que los halos de inhibición no se superpongan y deben colocarse a una distancia no inferior a 24 mm, de centro a centro
11. Incubar las placas en forma invertidas en la incubadora por 18 a 24 horas a 35 °C en atmósfera aeróbica para microorganismos no fastidiosos y para bacterias anaerobias facultativas incubar en atmósfera con 5% de CO<sub>2</sub>.
12. Leer el diámetro de inhibición mediante una regla milimetrada.
13. Comparar las mediciones con las tablas del manual del CLSI M100-S32
14. Establecer la categoría según las tablas del M100 (Sensible, Intermedio, Resistente)

## Anexo 11. Diseño de plantillas para la realización del antibiograma.

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTA DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA Calle Manuel Monteros y Carlos Román Loja</p>	<b>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS GRAM NEGATIVAS</b>	Código LCL-RG-
---	---	----------------


### *Escherichia Coli*



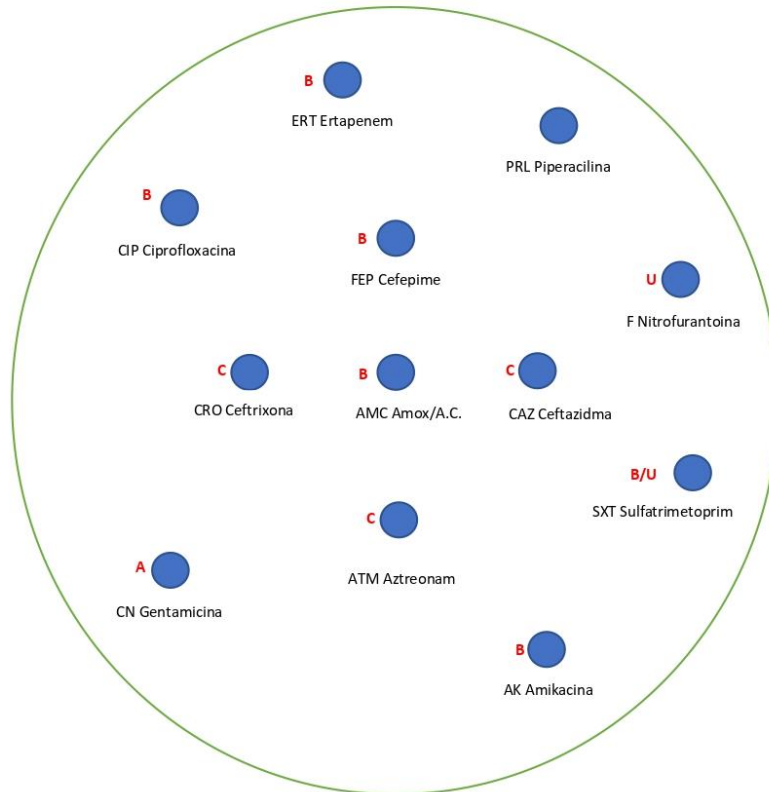
 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA  FACULTA DE LA SALUD HUMANA  CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO  LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA  Calle Manuel Monteros y Carlos Román  Loja</p>	<b>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS  GRAM NEGATIVAS</b>	<b>Código LCL-RG-</b>
--	--	-----------------------


## *Escherichia Coli*



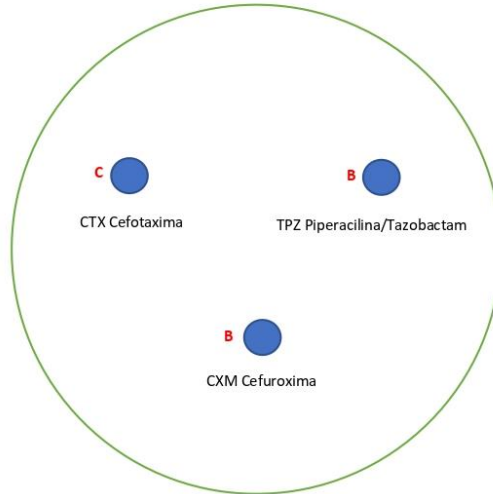
 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA  FACULTA DE LA SALUD HUMANA  CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO  LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA  Calle Manuel Monteros y Carlos Román  Loja</p>	<b>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS  GRAM NEGATIVAS</b>	<b>Código LCL-RG-</b>
--	--	-----------------------

## *Klebsiella*




 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA  FACULTA DE LA SALUD HUMANA  CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO  LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA  Calle Manuel Monteros y Carlos Román  Loja</p>	<b>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS  GRAM NEGATIVAS</b>	<b>Código LCL-RG-</b>
--	--	-----------------------

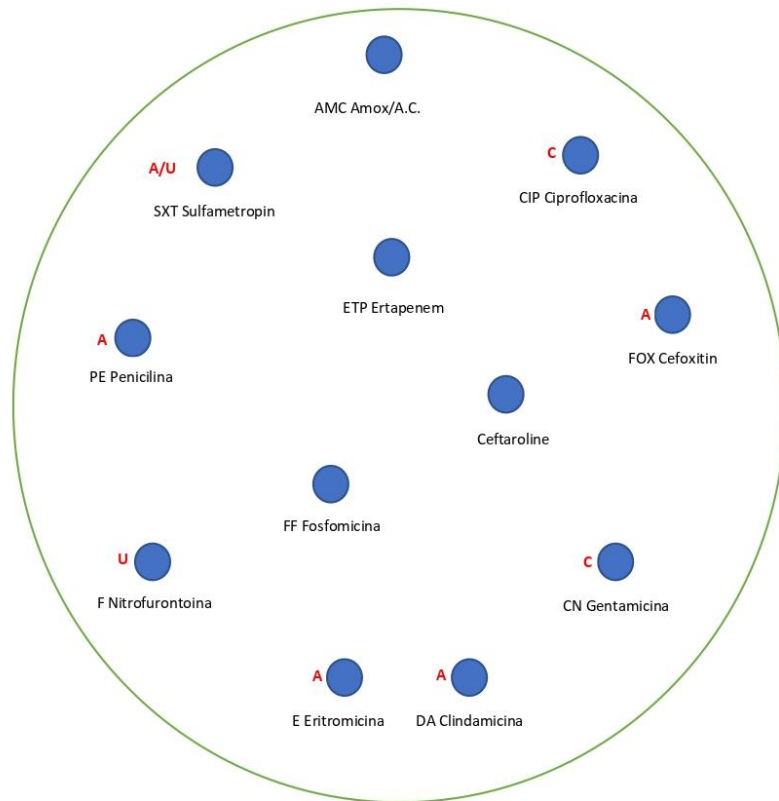
***Klebsiella***






 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA  FACULTA DE LA SALUD HUMANA  CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO  LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA  Calle Manuel Monteros y Carlos Román  Loja</p>	<p>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS  GRAM POSITIVAS</p>	<p>Código LCL-RG-</p>
--	--	-----------------------

*Staphylococcus SPP*




 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTA DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LABORATORIO DE MMICROBIOLOGÍA Calle Manuel Monteros y Carlos Román Loja</p>	<p>ANTIBIOGRAMA PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS</p>	<p>Código LCL-RG-</p>
---	---	-----------------------

***Enterococcus Spp***



Elaborado por:	Mario J. Aguilar Albito	
Revisado y aprobado por:	Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc.	

## Anexo 12. Detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>Detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido.</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 4

## DETECCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

### FUNDAMENTO

Las técnicas para la detección fenotípica de BLEE se basan en la propiedad que presentan la mayor parte de estas enzimas de ser inhibidas por ácido clavulánico y en la utilización de cefalosporinas de tercera y cuarta generación y aztreonam como indicadores.

La prueba de sinergia de doble disco consiste en situar un disco con amoxicilina-ácido clavulánico próximo a discos de betalactámicos indicadores. La producción de BLEE se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del ácido clavulánico.

La prueba de discos combinados con inhibidor es uno de los métodos que recomienda el CLSI (Clinical Laboratory and Standars Institute). Este método consiste en comparar los halos de inhibición de una cefalosporina de tercera o cuarta generación sola y con ácido clavulánico incorporado en los discos. La potenciación de la actividad de la cefalosporina en presencia de ácido clavulánico indica la producción de BLEE.

### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Asa bacteriológica
- Escobillones estériles
- Pinzas
- Pie de rey
- Mechero Bunsen o incinerador eléctrico
- Estufa incubadora de 36 °C

- Nevera 5 °C
- Agitador
- Nefelómetro
- Tubos con solución salina estéril 0,9%
- Agar Mueller-Hinton
- Agar Mueller-Hinton suplementado con cloxacilina (250 µg/ml)
- Discos/tabletas: ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), cefepima (30 µg), aztreonam (30 µg), amoxicilina-ácido clavulánico (20/10 µg), ceftazidima-ácido clavulánico (30/10 µg), cefotaxima-ácido clavulánico (30/10 µg), cefepima-ácido clavulánico (30/10µg), cefotaxima-cloxacilina (30/500), cefotaxima-ácido, clavulánico-cloxacilina (30/10/500 µg).
- Reactivos para la preparación de discos con inhibidor (en caso de no disponer de discos comerciales): ácido clavulánico, cloxacilina y agua destilada estéril

## **PRUEBAS PARA B LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO**

### **PROCEDIMIENTO**

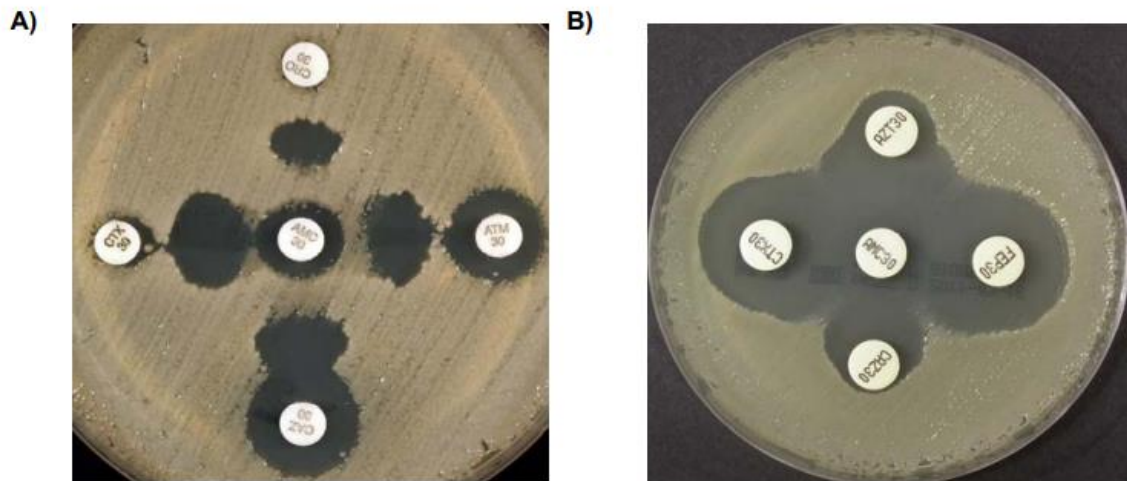
#### **PRUEBA DE SINERGIA DE DOBLE DISCO**

- Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.
- Situar un disco con cefotaxima, ceftazidima, cefepima y aztreonam a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con amoxicilina-ácido clavulánico. La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa.
- Incubar a 35±2°C durante 16-20 horas.

### **RESULTADOS**

- Positivo. Ampliación del halo de inhibición de cefotaxima, ceftazidima, cefepima o aztreonam en la zona próxima al disco con amoxicilina-ácido clavulánico (sinergia) o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas o aztreonam y el inhibidor.
- Negativo. No ampliación de los halos de inhibición de cefotaxima, ceftazidima, cefepima o aztreonam ni presencia de "zona fantasma"

**Fig.1.1.** Cepa de *Escherichia coli* productora de CTX-M-15 (A) y cepa de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 productora de SHV-18 (B). Se observa la sinergia positiva entre las cefalosporinas y ácido clavulánico.



ATM/AZT, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; FEP, cefepima; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

### **PRUEBA DE DISCOS COMBINADOS CON INHIBIDOR**

a) Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.

b) Colocar un disco con ceftazidima, ceftazidima-ácido clavulánico, cefotaxima, cefotaxima-ácido clavulánico, cefepima y cefepima -ácido clavulánico.

c) Incubar a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas

Preparación de los discos con inhibidor:

Preparar la solución madre de inhibidor con las concentraciones siguientes:

- ácido clavulánico 1 mg/mL (disuelto en agua estéril)

- cloxacilina 50 mg/mL (disuelto en agua estéril)

- Añadir 10  $\mu\text{L}$  de la solución de inhibidor a los discos con cefalosporinas.

- Dejar absorber la solución al menos 30 minutos y asegurarse que los discos están suficientemente secos antes de su aplicación.

## RESULTADOS


- a) Positivo. Incremento del diámetro de inhibición de ceftazidima, cefotaxima o cefepima en presencia de ácido clavulánico  $\geq 5$  mm respecto al de la cefalosporina correspondiente sin ácido clavulánico, independientemente de la presencia o ausencia de cloxacilina en el d b) Negativo. No incremento o diferencia  $< 5$  mm en
- b) Los halos de inhibición de las cefalosporinas con ácido clavulánico respecto a los de las cefalosporinas correspondientes sin ácido clavulánico. Disco/tableta.

Mecanismo de resistencia		CTX	CTX+CLA	CTX+CLO
<b>BLEE</b>	CTX+CLA o	$\geq 5$ mm	-	-
	CTX+CLA+CLO	-	$< 4$ mm	$\geq 5$ mm
<b>AmpC</b>	CTX+CLO o	$\geq 5$ mm	-	-
	CTX+CLA+CLO	-	$\geq 5$ mm	$< 4$ mm
<b>BLEE+AmpC</b>	CTX+CLA y	$< 4$ mm	-	-
	CTX+CLA+CLO	-	$\geq 5$ mm	$\geq 5$ mm

## CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se realizará siguiendo las directrices especificadas en los documentos de referencia adoptados por cada centro. Se recomienda realizar un control con cada nuevo lote de reactivos con las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 (control negativo) y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (portadora de SHV-18 control positivo).

### Anexo 13. Detección fenotípica de betalactamasas plasmídicas tipo AmpC.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>Detección fenotípica de betalactamasas plasmídicas tipo AmpC</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 4

#### FUNDAMENTO

Las pruebas de sinergia de doble disco y de discos combinados con inhibidor para la detección fenotípica de AmpCp se basan en la propiedad que presentan estas enzimas de ser inhibidas por cloxacilina o ácido borónico y en la utilización de cefalosporinas de tercera generación (cefoxitina, ceftazidima) como indicadores. La prueba de sinergia de doble disco consiste en situar un disco con cloxacilina o ácido borónico próximo a discos de betalactámicos indicadores de producción de AmpC. La producción de AmpCp se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del inhibidor.

La prueba de discos combinados con inhibidor consiste en comparar los halos de inhibición de un disco con alguna cefalosporina de tercera generación con el de un disco con la misma cefalosporina más cloxacilina o ácido borónico. La potenciación de la actividad de la cefalosporina en presencia del inhibidor indica la producción de AmpCp.

La prueba de aproximación de discos permite evidenciar el carácter inducible de la betalactamasa AmpC. Consiste en situar un disco con un betalactámico inductor débil (cefotaxima, ceftazidima, aztreonam) cercano a un betalactámico inductor fuerte (imipenem, cefoxitina). El achatamiento del halo del betalactámico inductor débil en la zona adyacente al del inductor fuerte demuestra la expresión inducible de la betalactamasa.

#### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos con solución salina estéril 0,9%
- Agar Mueller-Hinton

- Discos/tabletas: ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftazidima-cloxacilina (30/500 µg), cefotaxima- cloxacilina (30/500 µg), ácido borónico (250-400 µg) y cloxacilina (500 µg)
- Reactivos para la preparación de discos con inhibidor (en caso de no disponer de discos comerciales): cloxacilina, ácido amino-fenil-borónico o ácido fenil-borónico, y agua destilada estéril.
- Asa bacteriológica
- Escobillones estériles
- Pinzas
- Pie de rey
- Mechero Bunsen o incinerador eléctrico
- Estufa incubadora de 36°C
- Nevera 5°C
- Agitador
- Nefelómetro

### **PREPARACIÓN DE LOS DISCOS CON INHIBIDOR**

- Preparar la solución madre de ácido amino-fenil-borónico (disuelto en agua estéril) o fenil-borónico (disuelto en DMSO y agua estéril) o cloxacilina (disuelta en agua estéril).
- Añadir el volumen adecuado de la solución de inhibidor a los discos blancos (prueba de sinergia de doble disco) o a los discos con cefotaxima (30 µg) y ceftazidima (30 µg) (prueba de discos combinados) según la cantidad final por disco que se desee.
- Dejar absorber la solución al menos 30 minutos y asegurarse que los discos están suficientemente secos antes de su aplicación.

### **PRUEBA DE SINERGIA DE DOBLE DISCO**

- Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.
- Situar un disco con cefotaxima y un disco con ceftazidima a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con cloxacilina o ácido borónico La separación óptima de los discos puede variar en función de la cepa.



c) Incubar a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas.

Positivo. Ampliación del halo de inhibición de cefotaxima o ceftazidima en la zona próxima al disco con cloxacilina o ácido borónico (sinergia) o presencia de una "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor.

Negativo. No ampliación de los halos de inhibición de las cefalosporinas ni presencia de "zona fantasma".

### **PRUEBA DE DISCOS COMBINADOS CON INHIBIDOR**

a) Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.

b) Colocar un disco con ceftazidima, ceftazidima- cloxacilina, cefotaxima y cefotaxima-cloxacilina. Alternativamente se pueden utilizar discos combinados de las cefalosporinas con ácido borónico.

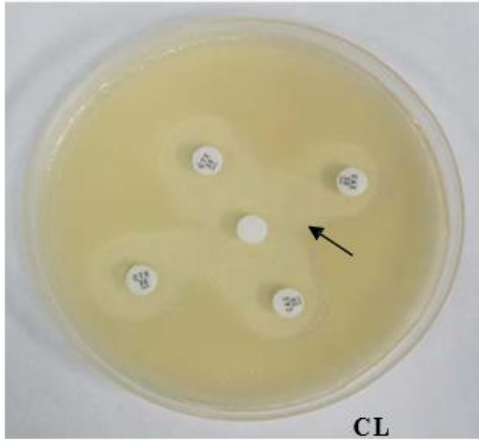
c) Incubar a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas.

Positivo. Incremento del diámetro de inhibición de ceftazidima o cefotaxima en presencia de cloxacilina o ácido borónico  $>5$  mm al de la cefalosporina correspondiente sin inhibidor.

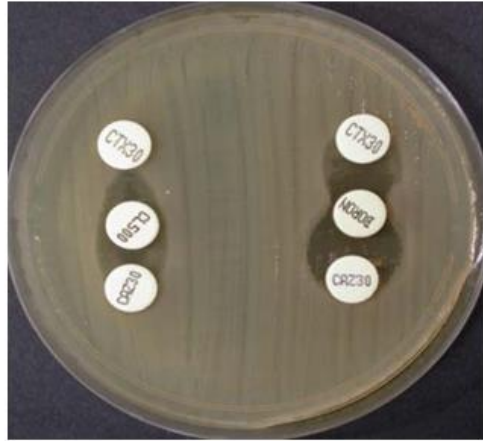
Negativo. No diferencia o diferencia  $<5$  mm en los halos de inhibición de las cefalosporinas con cloxacilina o ácido borónico con respecto al de las cefalosporinas correspondientes sin inhibidor

**Figura 1.** A) Cepa de *K. pneumoniae* productora de CMY-2. B) Cepa de *P. mirabilis* productora de CMY-2. Se observa sinergia positiva entre las cefalosporinas y la cloxacilina y el ácido borónico.

A)




B)



CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CL, cloxacilina; BORON, ácido borónico.

### Anexo 13. Detección fenotípica de carbapenemasas.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b> <b>Loja, Ecuador.</b></p> <p>Calle Manuel Monteros Telf: 072 57 13 79</p>	<b>Detección fenotípica de carbapenemasas</b>	<b>CODIGO:</b> 001
		<b>Revisado/Autorizado:</b> Lcda. Iliana Delgado Mg.Sc
		<b>Fecha de Elaboración:</b> Agosto 2022
		<b>Versión:</b> 001
<b>ÁREA:</b> LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA		<b>N° páginas:</b> 3

### FUNDAMENTO

Las carbapenemasas son un grupo heterogéneo de betalactamasas distribuidas en las clases moleculares A, B y D que presentan actividad hidrolítica sobre los carbapenémicos y la práctica totalidad de los antibióticos betalactámicos clínicamente relevantes.

El test de Hodge modificado es la técnica que el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recomienda para la detección fenotípica de carbapenemasas. La inactivación de los carbapenémicos por la cepa productora de carbapenemasa permite el crecimiento de un microorganismo indicador sensible a los lados de una estría efectuada con la cepa productora, en una placa con un disco de carbapenémico. Esta técnica permite detectar la producción de carbapenemasas, pero no proporciona información sobre la clase a la que pertenecen. Para ello se utilizan las técnicas de sinergia de doble disco, discos combinados con inhibidor y Etest MBL que se basan en la potenciación de la actividad de los carbapenémicos en presencia de inhibidores de carbapenemasas. Para la detección de carbapenemasas de clase A, el inhibidor utilizado es el ácido borónico. Para la detección de carbapenemasas de clase B los inhibidores son el ácido dipicolínico o EDTA.

### EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

- Tubos con solución salina estéril 0,9%
- Agar Mueller-Hinton
- Agar Mueller-Hinton suplementado con cloxacilina (250 µg/ml)
- Discos/Tabletas: imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), ertapenem (10 µg), imipenem-cloxacilina (10/500-750 µg), meropenem-cloxacilina (10/500-750 µg), imipenem-ácido borónico (10/300-600 µg), meropenem-ácido borónico (10/300-600 µg)

μg), imipenem-ácido dipicolínico (10/250-1000 μg), meropenem-ácido dipicolínico (10/250-1000 μg), imipenem-EDTA (10/730-1500 μg), meropenem- EDTA (10/730-1500 μg), ácido borónico (300-600 μg), ácido dipicolínico (250-1000 μg), EDTA (750-1500 μg), Etest MBL (bioMérieux).

- Reactivos para la preparación de discos con inhibidor (en caso de no disponer de discos comerciales): Cloxacilina, Ácido amino-fenil-borónico o ácido fenil-borónico, ácido dipicolínico, EDTA, agua destilada estéril, DMSO, discos blancos, estándar de turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland y cepa escherichia coli ATCC 25922.

### **PREPARACIÓN DE LOS DISCOS CON INHIBIDOR**

a) Preparar las soluciones madre de ácido amino-fenil-borónico (disuelto en agua estéril) o fenil- borónico (disuelto en DMSO y agua estéril), cloxacilina (disuelto en agua estéril), ácido dipicolínico (disuelto en DMSO y agua estéril) o EDTA (disuelto en agua estéril).

b) Añadir el volumen adecuado de la solución de inhibidor a los discos blancos (prueba de sinergia de doble disco) o a los discos con carbapenémicos (prueba de discos combinados) según la cantidad final por disco que se desee.

c) Dejar absorber la solución al menos 30 minutos y asegurarse que los discos están suficientemente secos antes de su aplicación.

### **TEST DE HODGE MODIFICADO**

a) Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa E. coli ATCC 25922 en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland diluida al 1:10.

b) Colocar un disco con un un carbapenémico (imipenem, meropenem o ertapenem) en el centro de la placa.

c) Inocular 3-5 colonias de la cepa problema formando una estría radial desde 2-3 mm del disco con carbapenémico hacia el borde de la placa.

d) Incubar a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas.

### **CONTROL DE CALIDAD**

Se realizará siguiendo las directrices especificadas en los documentos de referencia adoptados por cada centro. Se recomienda realizar un control con cada nuevo lote de reactivos con las cepas *E. coli* ATCC

25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 o *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 (controles negativos) y cepas portadora de carbapenemasa como *K. pneumoniae* ATCC BAA-2146 (portadora de NDM-1), *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 (portadora de KPC-2) o cepas controladas por el laboratorio (controles positivos).