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

TÍTULO

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN A LOS LABORATORIOS DE SERVICIOS DE SALUD DE LA UNL. PERIODO OCTUBRE 2011-ABRIL 2012”

Tesis previa a la obtención
del Título de Licenciado en
Laboratorio Clínico

AUTOR

Marlon Junior Delgado Calva

DIRECTORA DE TESIS

Lic. Carmen Ullauri

LOJA – ECUADOR

Abril 2012

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE
IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN A LOS
LABORATORIOS DE SERVICIOS DE SALUD DE LA UNL. PERIODO
OCTUBRE 2011-ABRIL 2012.**

AUTORÍA

Los conceptos, ideas, contenidos, comentarios, criterios, procedimientos, conclusiones y recomendaciones expuestas en el presente trabajo de investigación, denominado: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN A LOS LABORATORIOS DE SERVICIOS DE SALUD DE LA UNL. PERIODO OCTUBRE 2011-ABRIL 2012; son de exclusiva responsabilidad del autor.

.....
Marlon Junior Delgado Calva

CERTIFICACIÓN

Lic. Carmen Ullauri, Docente de la carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

CERTIFICO:

Haber dirigido el presente trabajo de investigación titulado: **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN A LOS LABORATORIOS DE SERVICIOS DE SALUD DE LA UNL. PERIODO OCTUBRE 2011-ABRIL 2012”**; de autoría del señor egresado Marlon Junior Delgado Calva, el mismo que ha sido desarrollado bajo mi orientación y revisión, durante todo el proceso de elaboración, por lo que apruebo su estructura, contenido, autenticidad y autorizo su presentación y publicación.

Loja, 5 de Abril del 2012

.....
Lic. Carmen Ullauri

DIRECTORA DE TESIS

AGRADECIMIENTO

Al culminar con éxitos mis estudios universitarios, quiero dejar constancia de mi profundo agradecimiento hacia todos aquellos quienes hicieron posible la exitosa culminación de la presente investigación:

De manera especial agradezco a la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana, mediante la Carrera de Laboratorio Clínico, por acogerme en sus prestigiosas aulas, donde adquirí los conocimientos puestos en práctica en este trabajo y base fundamental para mi vida profesional.

Un agradecimiento fraterno quiero expresar a la Lcda. Carmen Ullauri, quien con su experiencia supo guiarme en la realización, dirección y revisión del trabajo de investigación aquí expuesto.

Así mismo dejo constancia de mi especial consideración de gratitud al Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, y al personal de salud que en el labora, por la apertura y colaboración proporcionada, sin la cual no hubiera sido posible desarrollar esta investigación.

Y a todas las personas que en su debida oportunidad en la medida de sus posibilidades colaboraron material e intelectualmente para el desarrollo de la presente tesis de grado.

El Autor

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico a DIOS por ser mi gran maestro, guía y refugio espiritual.

A mis padres, quienes con su amor, apoyo y ejemplo, supieron guiar cada uno de mis pasos, inculcándome día a día fortaleza y dedicación, gracias a ellos que sin importar las adversidades de la vida y gracias a su gran sacrificio he culminado con éxito mis estudios universitarios.

De igual forma a mis hermanos, por su apoyo en todo momento y por ser ejemplos de perseverancia superación y éxito.

Compañeros y amigos con quienes he compartido gratas experiencias de mi vida estudiantil y me han inspirado confianza y deseos de superación en cada etapa de mi existencia.

A ti María que con gran paciencia supiste ofrecerme tu apoyo incondicional para poder alcanzar mis objetivos.

Marlon Jr.

RESUMEN

Se considera infección de vías urinarias (IVU) la presencia y multiplicación de microorganismos con invasión de los tejidos adyacentes que forman parte del aparato genitourinario. Las IVU son unas de las infecciones más comunes que afectan al ser humano a lo largo de su vida y son. Son 14 veces más frecuentes en la mujer que en el hombre, se ha comprobado que entre el 10 y el 30 % de las mujeres tendrán alguna infección urinaria en el curso de su vida, y más del 40 % recaen, la prevalencia de IVU pasa del 1 % en la edad escolar al 5 % a la edad de 20 años, epidemiológicamente asociada con el inicio de relaciones sexuales. A partir de los 20 años la prevalencia de IVU en la mujer sigue en aumento, a razón de un 1-2 % por cada década de vida, de modo que a los 70 años más del 10 % de las mujeres tienen bacteriuria asintomática; de tal manera que en la presente investigación se propuso: Caracterizar y determinar la prevalencia de bacterias causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL durante el periodo Octubre 2011-Abril 2012. Esta investigación de tipo descriptivo y corte transversal tuvo como muestra 50 mujeres en edad fértil que mediante pedido requerían de un urocultivo y aceptaron formar parte de la investigación, la misma que se desarrolló en el Centro de Diagnóstico Médico de Área de la salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, centro en el que se realizaron todos los procedimientos microbiológicos de laboratorio pre analíticos, analíticos y pos analíticos para identificar las bacterias causantes de IVU. Concluyendo que el 88 % de infecciones de vías urinarias en mujeres de edad fértil son causadas por bacterias gram negativas, todas ellas Enterobacterias: 66 % correspondientes a *Escherichia coli*, un 14 % a *Enterobacter agglomerans*, 4 % a *Proteus vulgaris*, y otro 4 % *Citrobacter amalonaticus*, mientras que el 12 % de infecciones restantes es causada por la bacteria gram positiva *Staphylococcus saprophyticus*.

Palabras clave: Infección de vías urinarias, mujeres de edad fértil, tracto genitourinario, nosocomial, enterobacterias, urocultivo.

SUMMARY

It is considered urinary tract infection (UTI) the presence and multiplication of microorganisms with invasion of adjacent tissues that are part of the genitourinary system. UTIs are among the most common infections that affect humans throughout life and are. They are 14 times more common in women than in men, it was found that between 10 and 30 % of women will have a urinary tract infection during their lives, and over 40 %, the prevalence of UTI passes 1 % at school age to 5 % at age 20, epidemiologically associated with the onset of sexual intercourse. After 20 years the prevalence of UTI in women is increasing at a rate of 1-2 % for each decade of life, so that at age 70 more than 10 % of women have asymptomatic bacteriuria; of so that in the present investigation was to characterize and determine the prevalence of bacteria that cause UTIs in women of reproductive age presenting to health services laboratories of the National University of Loja during the period October 2011-April 2012. This research is a descriptive and cross-sectional sample had the 50 women of childbearing age by order require a urine culture and accepted part of the research, the same as that developed in the Medical Diagnostic Center of Human Health area of the National University of Loja, center in which all procedures were performed microbiological laboratory pre analytical, analytical and post analytical to identify the bacteria causing UTIs. Concluded that 88 % of urinary tract infections in women of childbearing age are caused by gram-negative bacteria, all Enterobacteriaceae: 66 % for Escherichia coli, 14 % Enterobacter agglomerans, 4 % to Proteus vulgaris, and another 4 % Citrobacter amalonaticus, while the remaining 12 % of infections are caused by gram-positive bacterium Staphylococcus saprophyticus.

Keywords: Urinary tract infection, women of childbearing age, genitourinary tract, nosocomial, enterobacterium, urine culture.

ÍNDICE

Contenidos:	Páginas:
TÍTULO.....	II
AUTORÍA.....	III
CERTIFICACIÓN.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
RESUMEN.....	VII
SUMMARY.....	VIII
ÍNDICE.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	10
REVISIÓN LITERARIA.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
RESULTADOS.....	38
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	45
RECOMENDACIONES.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXOS.....	53

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de vías urinarias (IVU) o infección del tracto urinario (ITU), se definen como la invasión microbiana del aparato urinario que sobrepasa la capacidad de los mecanismos de defensa del huésped, produce alteraciones morfológicas o funcionales y una respuesta inmunológica no siempre evidenciable. Potencialmente todos los órganos y estructuras del aparato urinario, desde el meato uretral a la corteza renal, son susceptibles de ser afectados.⁽³⁾

Son un problema tanto a nivel mundial como en países en vías de desarrollo, debido a los bajos niveles de educación, concomitantemente a ello se añade los elementos culturales y costumbristas que mantienen tabúes que determinan el mantenimiento de prácticas alejadas de la higiene. Cada año el índice de enfermedades de infecciones de vías urinarias es mayor por lo que se ha visto la necesidad de buscar métodos de prevención y tratamiento para así disminuir este índice de morbilidad.

Así mismo, se apunta que los casos de IVU no tienen rango de edad, ni tampoco de género ya que esta enfermedad puede generarse sea en la niñez, adolescencia o edad adulta.

Las IVU son unas de las infecciones más comunes que afectan al ser humano a lo largo de su vida y son de las más frecuentes tanto en el ámbito comunitario como en el nosocomial. Son 14 veces más frecuentes en la mujer que en el hombre. Se ha comprobado que entre el 10 y el 30 % de las mujeres tendrán alguna infección urinaria en el curso de su vida, y más del 40 % recaen. La frecuencia de IVU comienza a incrementarse cuando la mujer inicia la vida fértil en la etapa puberal, y el desarrollo de estas infecciones es uno de los fenómenos más frecuentes, los cambios hormonales, metabólicos y anatómicos, diferencian y favorecen en la mujer la incidencia de este padecimiento. En la infancia, el riesgo de padecer una infección del tracto urinario hasta los 11 años de edad es de un 3 % en las niñas, y de un 1,1 % en los niños; en menores de 12 meses, la incidencia es del 3,7 % en los niños y del 2 % en las niñas.⁽²⁴⁾

En la mujer la prevalencia de IVU pasa del 1 % en la edad escolar al 5 % a la edad de 20 años, epidemiológicamente asociada con el inicio de relaciones sexuales. A partir de los 20 años la prevalencia de IVU en la mujer sigue en aumento, a razón de un 1-2 % por cada década de vida, de modo que a los 70 años más del 10 % de las mujeres tienen bacteriuria asintomática. ⁽²⁵⁾

En Europa y Norteamérica. Se estima que 150 millones de casos de infecciones de vías urinarias (IVU) ocurren anualmente, resultando gastos por más de 6 millones de dólares al sector salud. ⁽²⁶⁾

Según un informe del Centro para la Prevención y Control de las Enfermedades (CDC) de Estados Unidos, de Octubre del 2005, alrededor de 4 millones de consultas médicas ambulatorias son por IVU, resultando un costo anual de 1,6 millones de dólares para el tratamiento. ⁽²⁷⁾

De acuerdo a estadísticas de México un 60 % de las mexicanas tienen al menos un episodio de infección en vías urinarias a lo largo de su vida, son las mujeres, más que los hombres en una proporción de 20 a 1, las propensas a sufrir de este tipo de padecimiento. ⁽²⁸⁾

Un estudio realizado por la Universidad del Norte en Colombia durante el 2005 y 2006 mostró una distribución porcentual de infección del tracto urinario por sexo encontrando que, para el año 2005 fue: femenino: 72.9 % y masculino: 27.1 %, y para el año 2006: femenino: 73.8 % y masculino: 26.2 %. ⁽²⁹⁾

En Ecuador según el INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador) en el 2009 las infecciones de vías urinarias fueron un problema de salud que se ubicó en el octavo puesto con una tasa de 10.3 % en las mujeres con relación a las diez principales causas de morbi-mortalidad. ⁽³⁰⁾

En la región sur del Ecuador y en especial la provincia de Loja no existen estudios ni datos estadísticos encaminados a denotar la realidad de la problemática de las infecciones de vías urinarias causadas por bacterias.

Todo esto hace de que hoy en día las IVU se hayan convertido en uno de los problemas más relevantes en lo que concierne al campo de la salud pública puesto que la misma es una infección asociada a una serie de factores que

engloban la parte social, económica, educativa y/o costumbrista, más aún en la población estudiada, que es la de mujeres en edad fértil, siendo este el grupo vulnerable principal a tener este tipo de infecciones.

Considerando estos antecedentes, el presente estudio denominado: Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012; está encaminado a: Caracterizar las bacterias más comunes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL, determinar su prevalencia y realizar la difusión los resultados obtenidos ante los estudiantes de la carrera de Laboratorio Clínico

De tal manera se realizó una investigación de tipo descriptivo y transversal, teniendo como muestra 50 pacientes de sexo femenino en edad fértil que padecían de sintomatología compatible con IVU, requerían por pedido médico de un urocultivo, además cumplían con los criterios de inclusión tomados en cuenta y expuestos en esta investigación.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación y según la obra de Campbell, *Escherichia coli* es por mucho el agente causal más común de infección urinaria y es responsable del 85 % de las infecciones adquiridas en la comunidad y del 50 % de las infecciones intrahospitalarias. Otras enterobacterias Gram negativas, como *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, y *Enterobacter spp*, además de los gérmenes Gram positivos *Staphylococcus saprophyticus* explican el resto de las infecciones adquiridas en la comunidad.

Teniendo estos datos como referencia se pudo determinar que el 66 % de pacientes presentaron infección por *Escherichia coli*, un 14 % por *Enterobacter agglomerans*, un 12 % por *Staphylococcus saprophyticus* y compartiendo igualdad de porcentaje en un 4 % esta *Proteus vulgaris* y *Citrobacter amalonaticus*, siendo este ultimo un agente poco común causante de infecciones y muy poco mencionado en las estadísticas bibliográficas referentes a infecciones del tracto urinario.

REVISIÓN LITERARIA

ANATOMIA DEL SISTEMA URINARIO

El sistema urinario es el conjunto de órganos que participan en la formación y evacuación de la orina. Está constituido por dos riñones, órganos densos productores de la orina, de los que surgen sendas pelvis renales como un ancho conducto excretor que al estrecharse se denomina uréter, a través de ambos uréteres la orina alcanza la vejiga urinaria donde se acumula, finalmente a través de un único conducto, la uretra, la orina se dirige hacia el meato urinario y el exterior del cuerpo.

Los riñones filtran la sangre y producen la orina, que varía en cantidad, densidad y composición, para mantener el medio interno constante en composición y volumen, es decir para mantener la homeostasis sanguínea.

VÍAS URINARIAS

INTRA RENALES: cálices y pelvis renal

Son el conjunto de canales excretores que conducen la orina definitiva desde su salida del parénquima renal hasta el exterior del riñón: los cálices menores, mayores y la pelvis renal.

Los cálices menores son unas estructuras visibles macroscópicamente, en forma de copa, situados en el seno renal. Recogen la orina procedente de los conductos papilares que desembocan en la papila renal. En cada riñón hay tantos cálices menores como pirámides, es decir entre 8 y 18 aproximadamente. Los cálices mayores, en número de 2 a 3 por riñón, conducen la orina de los cálices menores a la pelvis renal.

La pelvis renal se forma por la reunión de los cálices mayores, es un reservorio con capacidad para 4-8 cm³ de orina, tiene actividad contráctil que contribuye al avance de la orina hacia el exterior. La pelvis renal tiene una porción intrarrenal, situada en el seno renal y una porción extrarrenal, a partir del hilio, que se hace progresivamente más estrecha hasta continuarse con el uréter.

EXTRA RENALES: uréteres, vejiga y uretra

Son los uréteres, la vejiga urinaria, y la uretra: La pelvis renal de cada riñón se continúa con el uréter correspondiente éstos son dos finos conductos músculomembranosos (entre 4 y 7 mm de diámetro), retroperitoneales, que terminan en la base de la vejiga urinaria, dibujando un trayecto de entre 25 a 30 cm, con una porción abdominal y una pelviana.

En su trayecto abdominal, los uréteres descienden verticalmente al penetrar en la cavidad pélvica, a continuación, en la mujer lo hacen por debajo de las arterias uterinas. Finalmente los dos uréteres llegan al fondo vesical donde se desembocan en la vejiga un órgano muscular hueco situado en la cavidad pélvica, es un reservorio de orina con capacidad máxima fisiológica de hasta 800 ml, aunque en determinadas patologías puede exceder bastante este volumen.

Cuando está vacía, la vejiga adopta una forma triangular de base ancha situada hacia atrás y hacia abajo, el fundus vesical donde hay tres orificios, los dos ureterales, separados por unos 4-5 cm. y el orificio uretral, punto de partida de la uretra.

El orificio uretral y el inicio de la uretra están rodeados por dos esfínteres: uno de control involuntario formado por haces del músculo pubovesical y otro de control voluntario formado por fibras del músculo transverso profundo del periné que forma parte del diafragma urogenital.

La uretra femenina es un conducto de unos 3-4 cm. de longitud destinado exclusivamente a conducir la orina. Nace en la cara inferior de la vejiga, desciende describiendo un trayecto ligeramente cóncavo hacia delante, entre la sínfisis púbica por delante y la pared vaginal por detrás, desemboca en el meato uretral externo de la vulva, entre el clítoris por delante y el orificio vaginal por detrás. Poco antes del meato, la uretra atraviesa el músculo transverso profundo del periné que constituye su esfínter externo, de control voluntario.

INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS

Las infecciones de vías urinarias (IVU) o infección del tracto urinario (ITU), se definen como la invasión microbiana del aparato urinario que sobrepasa la capacidad de los mecanismos de defensa del huésped, produce alteraciones morfológicas o funcionales y una respuesta inmunológica no siempre evidenciable. Potencialmente todos los órganos y estructuras del aparato urinario, desde el meato uretral a la corteza renal, son susceptibles de ser afectados.

La importancia de las infecciones del tracto urinario es el desarrollo de cuadros infecciosos, morbilidad aguda y problemas a largo plazo tales como: hipertensión arterial o insuficiencia renal crónica con o sin daño renal. Muchas veces los diagnósticos suelen ser tardíos por presentarse fiebre sin foco, sumado a la demora en el tratamiento, acrecentándose el peligro de daño renal y que aumentan conforme se reiteran los episodios. Esto obliga a la realización de diversos estudios por imágenes algunos relativamente invasivos (exposición a radiaciones), prescripción reiterada de antibióticos y con la magnitud económica que gira en torno a esta enfermedad, no es de extrañarse que figuren en todos los estudios de costo/beneficio.

Factores predisponentes para el padecimiento de infecciones de vías urinarias

Los recambios fisiológicos que implica el inicio de la vida fértil durante la pubertad, son los principales factores que predisponen a la mujer para adquirir infecciones de vías urinarias. Esto involucra la activación de las hormonas gonadotrofinas; estrógenos y progesterona que están directamente relacionadas con la maduración folicular, crecimiento endometrial, producción de glicógeno que favorece el crecimiento de lactobacillus y la consiguiente acidificación del pH vaginal, mismo pH que al alterarse promueve el crecimiento bacteriano de agentes patógenos.

Al margen de situaciones fisiológicas, como la edad, sexo o embarazo, existen múltiples situaciones que favorecen el desarrollo de infecciones urinarias. Las alteraciones orgánicas y/o funcionales del aparato urinario se asocian con

relativa frecuencia a infección urinaria. Aunque no de forma exclusiva existe un determinado predominio de patologías en función de la edad. Durante la infancia las malformaciones congénitas; en el adulto, la litiasis y vejigas neurógenas; y en la senectud el prostatismo en el varón y menopausia en la mujer, las anomalías en la posición de la vejiga, el uso de ropa interior de materiales sintéticos, tener múltiples compañeros sexuales, el desaseo genital, y en ambos sexos las lesiones vesicales neurológicas de origen central o secundarias a accidentes vasculares.

Diagnóstico de IVU

El diagnóstico de infección urinaria sin especificar la localización alta o baja requiere síntomas y signos específicos urinario y otros generales que constituyen un cuadro clínico sospechoso o altamente probable, además de un urocultivo obtenido al acecho con recuento de colonias significativo.

En la mayor parte de los casos, el crecimiento de 105.000 UFC/ml en una muestra de orina adecuadamente recogida, puede significar infección, en presencia de síntomas o piuria se considera IVU con valores mucho menores hasta 100.000 UFC/ml.

El concepto un tanto arcaico de infección localizada a un determinado nivel (pielitis, uretritis) debe ser sustituido por el más adecuado de infección parenquimatosa (pielonefritis, prostatitis) o infección de vías (cistitis, uretritis) con aplicaciones pronósticas y terapéuticas distintas.

INICIO DE LA VIDA FÉRTIL EN LA MUJER

La reproducción de los seres humanos, como en todos los mamíferos, está a cargo de unas estructuras biológicas que están presentes ya en el feto. Pero la maduración y el funcionamiento eficaz de estas estructuras normalmente van a producirse en el curso de la adolescencia y constituyen sin duda los acontecimientos más significativos del desarrollo puberal.

La menarquia, el inicio de la primera menstruación en las niñas, indica que han alcanzado la capacidad reproductiva, y es un indicador ampliamente utilizado

como muestra de que se ha llegado a la pubertad. La edad de la menarquia es muy variable y depende en gran medida del estado nutricional.

Se considera entonces que la época fértil de la mujer comienza tras la primera regla (menstruación), y finaliza coincidiendo con la última, aunque esto no es realmente exacto, ya que la fertilidad se conseguirá con el logro de ciclos ovulatorios, aproximadamente a los 2 años de la menarquía, y se perderá igualmente unos años antes de la menopausia.

BACTERIAS

Son seres unicelulares que pertenecen al Reino Protista, el tamaño de las bacterias oscila entre las 0.5 y 3 μm , pudiendo llegar en algunos tipos a 10 μm . Las bacterias de interés médico tienen un tamaño entre 0.4 y 2 μm . Solo son visibles entonces al microscopio óptico o microscopio electrónico, tienen además diversas formas incluyendo cocos (esferas), bacilos (barras) y espirilos (hélices).

Estructuras de superficie y de cubierta

La cápsula, no es constante. Es una capa gelatinomucosa de tamaño y composición variables que juega un papel importante en las bacterias patógenas. Constituye el soporte del antígeno "K"

Los cilios, o flagelos, no existen más que en ciertas especies. Filamentosos y de longitud variable, constituyen los órganos de locomoción. Según las especies, pueden estar implantados en uno o en los dos polos de la bacteria, o en todo su entorno. Constituyen el soporte de los antígenos "H".

La pared que poseen la mayoría de las bacterias explica la constancia de su forma. En efecto, es rígida, dúctil y elástica, su originalidad reside en la naturaleza química del compuesto macromolecular que le confiere su rigidez. Este compuesto, un mucopéptido, está formado por cadenas de acetilglucosamina, ácido murámico y de cadenas cortas de aminoácidos. En las bacterias Gram negativas forman el antígeno "O"

La membrana citoplasmática, situada debajo de la pared, tiene permeabilidad selectiva frente a las sustancias que entran y salen de la bacteria. Es soporte de numerosas enzimas, en particular las respiratorias.

Estructuras internas

El núcleo, lleva el material genético de la bacteria; está formado por un único filamento de ácido desoxirribonucleico (ADN) apelonado y que mide cerca de 1 mm de longitud (1000 veces el tamaño de la bacteria).

Los ribosomas, son elementos granulosos que se hallan contenidos en el citoplasma bacteriano; esencialmente compuestos por ácido ribonucleico, desempeñan un papel principal en la síntesis proteica.

El citoplasma, por último, contiene inclusiones de reserva.

Metabolismo

El metabolismo bacteriano se clasifica en base a dos criterios importantes:

Según la fuente de carbono, las bacterias se pueden clasificar como:

Heterótrofas, cuando usan compuestos orgánicos.

Autótrofas, cuando el carbono celular se obtiene mediante la fijación del dióxido de carbono.

Las bacterias autótrofas típicas son las cyanobacterias fotosintéticas, las bacterias verdes del azufre y algunas bacterias púrpura. Pero hay también muchas otras especies quimiolitotrofas, por ejemplo, las bacterias nitrificantes y oxidantes del azufre.

Según la fuente de energía, las bacterias pueden ser:

Fotótrofas, cuando emplean la luz a través de la fotosíntesis.

Quimiotrofas, cuando obtienen energía a partir de sustancias químicas que son oxidadas principalmente a expensas del oxígeno o de otros receptores de electrones alternativos (respiración aerobia/anaerobia).

La división celular bacteriana.

La síntesis de la pared, el crecimiento bacteriano y la duplicación del ADN regulan la división celular. La bacteria da lugar a dos células hijas. La división empieza en el centro de la bacteria por una invaginación de la membrana citoplasmática que da origen a la formación de un septo o tabique transversal. La separación de las dos células va acompañada de la segregación en cada una de ellas de uno de los dos genomas que proviene de la duplicación del ADN materno.

Clasificación bacteriana.

Las bacterias han sido divididas y clasificadas en varios grupos de acuerdo a su morfología, localización, metabolismo, condiciones de crecimiento, etc.

El método de clasificación bacteriano para fines prácticos y de investigación, ampliamente utilizado en los laboratorios de diagnóstico médico está basado en la capacidad de las bacterias para retener los colorantes en su pared celular de acuerdo su conformación, de esta manera y por la tinción Gram (Anexo 1) se distinguen dos grandes grupos bacterianos: las bacterias Gram (+), y bacterias Gram (-)

Las bacterias Gram (+) son aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram.

Las bacterias Gram (-) son aquellas bacterias que se tiñen de un color rosado tenue: de ahí el nombre de "Gram-negativas"

Microorganismos patógenos urinarios

La mayoría de las infecciones urinarias son producidas por anaerobios facultativos, enterobacterias que en general proceden de la flora intestinal. *Escherichia coli* es por mucho la causa más común de infección urinaria y es responsable del 85 % de las infecciones adquiridas en la comunidad y del 50 % de las infecciones intrahospitalarias. Otras enterobacterias Gram negativas, como *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*. y el germen Gram positivo *Staphylococcus saprophyticus* explican el resto de las infecciones adquiridas en la comunidad.

ENTEROBACTERIAS

Perteneces a la familia *Enterobacteriaceae*, el grupo más grande y heterogéneo de bacilos Gram negativos con importancia clínica, se han descrito más de 40 géneros y cientos de especies y sub especies.

Estos géneros se han clasificado en función de sus características bioquímicas, estructura antigénica, hibridación ADN-ADN y secuenciación del ARNr 60s.

Las enterobacterias son microorganismos ubicuos, se encuentran en forma universal en el suelo, el agua y la vegetación y también la flora intestinal normal de muchos animales incluido el ser humano. Producen una gran cantidad de enfermedades, como el 30 % al 35 % de las bacteriemias, más el 70 % de las infecciones del tracto urinario y muchas infecciones intestinales.

Escherichia coli

E. coli es la bacteria más constantemente encontrada en las materias fecales del hombre y de muchas especies animales. Su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la flora nativa intestinal y se encuentra en calidad de saprobio sin causar daño. Por el contrario, muchas cepas de *E. coli* producen sustancias que son útiles al hospedero, como son las colicinas, que tienen efecto inhibitorio sobre otras cepas potencialmente patógenas, por lo que la colonización del intestino es benéfica para el hospedero.

E. coli es un bacilo Gram negativo, con una sola cadena espiral de ADN, aerobio y aerobio facultativo, la mayoría forma fimbrias y pilis, muchas cepas producen una pequeña micro cápsula, y muy pocas elaboran macro cápsula, no fabrican esporas. Tiene información genética en los plásmidos, que son responsables por la producción de toxinas y la resistencia a los antimicrobianos. El genoma de *E. coli* contiene un tota de 5,000 genes.

De acuerdo a la patogenicidad provocada en animales se la ha clasificado en:

- *Escherichia coli* enteropatogénica (ECEP)
- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)

- *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI)
- *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH)
- *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA)

Contienen dos determinantes antigénicos que le confieren su agresividad y virulencia:

- El antígeno somático O, proveniente del lipopolisacárido de la pared celular;
- El antígeno flagelar H, compuesto por 75 polisacáridos, además de la pilina, proteína que le confiere la capacidad de adhesión a la célula huésped.

Patogenicidad.

Las infecciones producidas por cepas de *E. coli* patógenas pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse. Cuatro síndromes clínicos pueden resultar de la infección por cepas patogénicas: infección de vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedad diarreica.

Algunas cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad.

Identificación en el laboratorio

El diagnóstico de infección por *E. coli* se lo realiza por medio de un cultivo microbiológico. En el urocultivo es importante diferenciar si hay crecimiento bacteriano de colonias por encima de las cien mil UFC/ml para establecer una verdadera infección por *E. coli*.

E. coli crece en agar Mac Conkey formando colonias generalmente fermentadoras de lactosa, de color rosa intenso, algo planas, secas, con reflejo iridiscente y halo de precipitación de sales biliares, crece también en agar sangre, agar EMB y en medios simples con o sin agregado de NaCl, son fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59 % en su DNA, móviles,

producen ácido y gas a partir de la glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares. Producen reacción positiva de rojo de metilo, y negativa de Vogues-Proskauer. Son incapaces de crecer en medio con citrato como única fuente de carbono y energía, pero sí en caldo acetato. Son H₂S, ureasa y fenilalanina negativos, pero en general son indol positivos y descarboxilan la lisina, catalasa positivo, oxidasa negativo (Anexo 2).

Al tener más de 170 serogrupos, según las características antigénicas de su LPS, y en serotipos por la combinación de antígenos O y H flagelares, a demás de otros antígenos presentes en distintas cepas (capsulares, fimbriales y otros), pueden ser identificados *in vitro* mediante pruebas inmunológicas.

Tratamiento.

El uso de antibióticos es poco eficaz y casi no se prescribe. Para la diarrea se sugiere el consumo de abundante líquido y evitar la deshidratación. Cuando una persona presenta diarrea no debe ir a trabajar o asistir a lugares públicos para evitar el contagio masivo. Sin embargo en algunas patologías como la pielonefritis hay que considerar el uso de alguna cefalosporina endovenosa.

Proteus spp

Este género está formado por bacilos muy móviles, se conocen las especies: *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri* y *P. myxofaciens*.

Fuera del tubo digestivo producen infecciones en vías urinarias, en heridas y en otros tejidos.

La estructura antigénica está compuesta por antígeno somático O, flagelar H y superficial K. El antígeno flagelar H contribuye a la capacidad invasora de las vías urinarias. La variante X del antígeno somático O está presente en algunas cepas de *P. mirabilis*. Otros grupos antigénicos definidos son el OX2, OX19 y OXK. El grupo OX19 (y a veces el grupo OX2) da reacciones cruzadas (aglutinación) en pacientes con *Rickettsia prowazekii*.

Presenta unas características particulares que, unido a algunas peculiaridades en sus perfiles bioquímicos, le hacen fácilmente reconocible en el laboratorio de microbiología. (Anexo 2)

Patogenicidad

Hay tres especies que causan infecciones oportunistas en el hombre: *P. vulgaris*, *P. mirabilis* y *P. penneri* causan infecciones urinarias (más del 10 % de complicaciones del tracto urinario incluyendo cálculos y lesiones celulares del epitelio renal), enteritis (especialmente en niños), abscesos hepáticos, meningitis, otitis media, neumonía con o sin empiema, entre otros. Es un frecuente invasor secundario de quemaduras y heridas, así como infecciones nosocomiales.

La última edición del Manual de Microbiología Clínica de la Sociedad Americana de Microbiología (octava edición) adjudica a *P. penneri* una significación patogénica con valor 1 (patógeno reconocido para el hombre) de entre tres categorías diferentes. La categoría 2 indica patogenicidad probada en contadas ocasiones y la 3 indica que el microorganismo se ha aislado en humanos pero con significación incierta. En la categoría 1 también se incluye otras especies del género *Proteus* como *P. mirabilis* y *P. vulgaris* mientras en la categoría 3 se destaca *Providencia heimbachae* y *Providencia rustigianii*. La patogenicidad se asocia a la presencia de fimbrias, flagelos, proteínas de membrana externa específicas, lipopolisacárido, enzimas proteolíticas, incluyendo gelatinasas y proteasas, hemolisinas y sobre todo a la producción de ureasa. La mayoría están presentes en el resto de las especies del género *Proteus*.

Identificación en el laboratorio

El reconocimiento inicial en las placas de cultivo de los microorganismos adscritos al género *Proteus* es relativamente sencillo, ya que se caracterizan por su crecimiento en ondas en la superficie del agar, bien formado círculos concéntricos a partir de un botón de inoculación o con una película uniforme. Este efecto se conoce como *swarming*. Esta característica es debida a cambios en los procesos de elongación durante la división celular, formándose células alargadas no septadas y a la hiperexpresión de la síntesis de flagelina. Estos procesos se producen para conseguir una mejor adaptación de los integrantes del género *Proteus* a los diferentes microambientes en los que se desarrollan.

Esta característica se pierde en medios deficientes en electrolitos, como el medio de CLED, la propiedad de producir *swarming* es común a todas las especies del género *Proteus*, aunque en algunas cepas de *P. penneri* está disminuida. Muchos medios cromogénicos actuales utilizados para la siembra de orinas, están diseñados para evitar este crecimiento en ondas en las placas de cultivo.

Se requiere la realización de pruebas bioquímicas adicionales como:

Siembra en medio SIM para observar la motilidad y formación de sulfuro de hidrógeno, prueba de la catalasa, siembra en medio TSI para determinar la fermentación de azúcares y formación de gas, siembra en agar citrato, pruebas de ureasa, fenilalanina e indol, además de la prueba de licuefacción de gelatina para la identificación acertadamente este género.

Tratamiento

P. mirabilis es generalmente susceptible a muchos antibióticos como tetraciclinas, aunque el 10 %-20 % de las cepas de *P. mirabilis* son resistentes a las cefalosporinas y ampicilinas de 1ª generación

Tratamiento empírico:

Las IVU en general causadas por enterobacterias se tratan con fosfomicina, trimetamol, ofloxacino: 200 mg/12 h oral durante tres días. Si la sintomatología tuviera una duración superior a siete días, en diabéticos, pacientes diagnosticados de insuficiencia renal, inmunodeprimidos, infecciones por *Proteus spp* y en pacientes ambulatorios con infección reciente (en el último mes) el tratamiento se ha de prolongar hasta siete días.

Klebsiella spp.

Los microorganismos del género *Klebsiella* son bacilos Gram negativos inmóviles que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, el género *Klebsiella* está formado por varias especies, entre las que se encuentran *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola* y *K. terrigena*. La capa más externa de *Klebsiella spp* está formada por una gran cápsula de polisacáridos que diferencian a estos microorganismos de otros géneros de esta familia. Aproximadamente del 60 al

80 % de los microorganismos del género *Klebsiella* aislados en muestras de heces y muestras clínicas son *K. pneumoniae* y dan positivo en la prueba de coliformes termo tolerantes. *K. oxytoca* también se ha identificado como microorganismo patógeno.

Patogenicidad

Se ha detectado *Klebsiella spp.* En pacientes de hospitales, estando la transmisión asociada con la manipulación frecuente de los pacientes (por ejemplo, en las unidades de cuidados intensivos). Quienes se exponen a un riesgo mayor son las personas con sistemas inmunitarios poco activos, como las personas ancianas o muy jóvenes, los pacientes con quemaduras o heridas extensas, los que están siendo sometidos a tratamientos con inmunodepresores o los infectados por el VIH. La colonización puede dar lugar a infecciones invasivas. En raras ocasiones, *Klebsiella spp.*, y en particular, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, pueden causar infecciones graves, como neumonía destructiva.

K. pneumoniae es el agente causal de infecciones del tracto urinario, neumonía, sepsis, infecciones de tejidos blandos, e infecciones de herida quirúrgica

Identificación en el laboratorio

El diagnóstico comienza a partir de la clínica; en los casos de neumonía, es especialmente útil el estudio radiográfico.

El diagnóstico definitivo lo obtenemos a partir del cultivo de muestras obtenidas adecuadamente. El urocultivo es la prueba bacteriológica que nos permitirá caracterizar el patógeno, las características macroscópicas de las colonias que han crecido en el urocultivo nos dan la iniciativa para su identificación.

Sembradas en agar Mac Conkey forma colonias de color rosa débil, con el color concentrado en el centro, grandes brillantes, muy mucosas, que filamentos al tocarse con el asa, sin halo de precipitación de sales biliares, las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana de este género de

bacterias están basadas en sus capacidades metabólicas, utilización de sustratos y la identificación de productos finales:

Se siembra en medio TSI para observar la fermentación de azúcares y formación de gas, siembra en agar citrato, prueba de Voges Proskauer, ureasa, lisina, e hidrólisis de la gelatina. (Anexo 2)

Tratamiento

El tratamiento de elección consiste en la asociación de una cefalosporina de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxon) y un aminoglucósido

Enterobacter spp

Son un grupo de bacterias que pertenecen al género *Enterobacter*, de la familia de las *Enterobacteriaceae*. Son bacilo Gram negativos Oxidasa negativo y Catalasa positivo presente en el aparato digestivo humano.

Enterobacter cloacae y *Enterobacter agglomerans* (actualmente *Pantoea agglomerans*) son los miembros de la familia responsables de la mayor parte de las infecciones intrahospitalarias, así como de una epidemia importante originada por una contaminación de una perfusión

Se han descrito casos de infecciones del tracto urinario, de herida quirúrgica e incluso bacteriemia. No obstante, lo más frecuente son infecciones nosocomiales en pacientes inmunocomprometidos.

Patología

Enterobacter spp es un bacilo Gram negativo, que como hemos dicho causa fundamentalmente infecciones nosocomiales, aunque también se han descrito casos de meningitis neonatal y de artritis séptica. Puede crecer en medios ricos en glucosa, por lo que ocasionalmente produce infecciones relacionadas con la infusión intravenosa de sueros, que pueden originar brotes de bacteriemia en los hospitales. Se ha referido un aumento de las resistencias de este microorganismo a los antibióticos betalactámicos, lo que puede motivar el empleo de los carbapenemes en ciertos casos.

Identificación en el laboratorio

La mejor forma de identificar al género *Enterobacter* en muestras clínicas es por medio de un cultivo al que se debe realizar rigurosa pruebas bioquímicas basadas en la capacidad metabólica de las bacterias.

En la mayoría de laboratorios se puede cultivar este género de bacterias en medios de agar sangre, agar Mc conkey y EMB.

Son fermentadoras de lactosa, descarboxilan la ornitina a excepción de *E. agglomerans*, *E. sakazaki* se diferencia por presentar un pigmento amarillo.

En agar sangre sus colonias son mucoides, en la prueba del MIO dan positivo, indol positivo (*E. agglomerans*)

Tratamiento

El tratamiento de elección en las infecciones por *Enterobacter spp* consiste en la asociación de un carbapenema (ertapenem, imipenem, meropenem) y un aminoglucósido (gentamicina). Se recomienda hacer siempre un antibiograma, dado que se conoce la aparición de múltiples resistencias por expresión de cefalosporinas

Staphylococcus saprophyticus

La especie *S. saprophyticus*, coagulasa negativo merece una mención especial, porque se ha comprobado que este patógeno causa infecciones urinarias en mujeres jóvenes, sanas sexualmente activas. En 1996 se caracterizó una subespecie nueva entre cepas nuevas resistentes a la novobiocina, coagulasa negativas recuperadas de 7 % de cultivos nasales de vacas sanas. Las características fenotípicas, los análisis de ácidos grasos y de la pared celular, y los estudios de parentesco genético mostraron que esas cepas eran similares pero distintas de las de *S. saprophyticus* aislada en seres humanos. Estas cepas bovinas fueron llamadas *S. saprophyticus* subespecie *bovis*, mientras que las cepas humanas ahora son llamadas *S. saprophyticus* subespecie *saprophyticus*

En los últimos años se han estudiado varios factores de virulencia de *S. saprophyticus*, estudios *in vitro* de la adherencia de estas bacterias a varios grupos de células mostraron que *S. saprophyticus* se adhiere a las células periuretrales, uretrales y uroepiteliales más que otros estafilococos y no se adhiere a otros tipos de células, como los de la mucosa bucal y las de la piel. Este tropismo por el tejido uroepitelial puede explicar en forma parcial la elevada frecuencia de IVU causadas por este microorganismo.

Patología y tratamiento

S. saprophyticus se adhiere significativamente mejor a las células uroepiteliales que el *S. aureus* y el *S. epidermidis* y no se adhiere a otros tipos celulares como piel y células mucosas bucales.

Es un importante agente causal de infecciones agudas del tracto urinario en mujeres ambulatorias en edad sexual activa y está considerado como el segundo agente más frecuente de cistitis después de *Escherichia coli*, en esta población.

Las pacientes con esta infección habitualmente presentan disuria, piuria y hematuria, aunque han sido descritos algunos pocos casos de infecciones asintomáticas.

Muchas cepas son resistentes a la penicilina, es sensible a la vancomicina, trimetoprim-sulfametoxazol, oxacilina, norfloxacin, gentamicina, pero es resistente a la metilcilina en algunos casos.

Identificación en el laboratorio

El *Staphylococcus saprophyticus* se encuentra dentro de los estafilococos coagulasa negativo, las colonias presentan una pigmentación amarilla la mayoría de las veces y no son hemolíticas. (Anexo 3)

Son cocos Gram positivos, catalasa positivo, coagulasa negativo, anaerobio facultativo, no formador de cápsula, no formador de esporas e inmóvil, Posee la enzima ureasa y es capaz de adherirse a las células epiteliales del tracto urogenital.

Puede ser identificado presuntivamente en el laboratorio por su resistencia a la novobiocina de 5 mcg y usualmente es sensible a la mayoría de los antibióticos urinarios a excepción del ácido nalidíxico.

Pueden realizarse pruebas para la confirmación por la producción de ácidos a partir de xilosa, manosa, arabinosa y sacarosa.

Agentes infecciosos poco frecuentes.

Citrobacter amalonaticus.

Citrobacter amalonaticus es una bacterias Gram-negativa, móvil, anaerobio facultativo perteneciente a la división de enterobacteriaceas en forma de bastoncillos son quimioheterótrofos y utilizar citrato como única fuente de carbono.

Las bacterias viven en casi cualquier espacio disponible y *C. amalonaticus* no es una excepción. Se encuentra en el suelo, el aire, el agua, y hasta los intestinos de diversos animales, incluyendo seres humanos y los murciélagos. En los murciélagos, se ha descubierto que la *C. amalonaticus* es capaz de romper la quitina de los insectos digeridos parciales. *C. amalonaticus* también tiene la capacidad de acumular metales a partir de su medio ambiente mediante la combinación de ellos con fosfatos. Cuando *C. amalonaticus* tiene fosfatos orgánicos disponibles, es capaz de descomponer y utilizar el fosfato y de atraer los iones metálicos que se encuentran en su entorno.

Patología y tratamiento

Se pueden encontrar en el sistema digestivo humano y se han relacionado con algunos problemas digestivos leves, como diarrea. *C. amalonaticus* también puede ser un patógeno oportunista, lo que significa que causan pocos problemas en las personas sanas, pero son capaces de causar infecciones graves en personas con un sistema inmune debilitado. La enfermedad más común que *C. amalonaticus* causa son las infecciones urinarias, que incluso puede hacer en un huésped sano.

Citrobacter amalonaticus se encuentra normalmente en los intestinos, pero si se las arregla para mantener una presencia en el tracto urinario, y así provocar una infección, que es similar a la mayoría de otras infecciones del tracto urinario. También se ha sabido que *C. amalonaticus* puede causar una enfermedad similar fiebre entérica.

El tratamiento antibiótico de las infecciones por enterobacterias oportunistas esta influido por la resistencia natural que presentan muchas de ellas a determinado grupo de antimicrobianos, y en particular a los antibioticos β -lactámicos. La mayoría de enterobacterias posee una β - lactamasa cromosómica propia de cada especie.

Algunas de las especies del género *Citrobacter* son de manera natural resistentes a la ampicilina, amoxicilina- ácido clavulanico, y las cefalosporinas de primera generación. Por lo que en la clínica se prescribe para el tratamiento de estas infecciones algunos antibioticos pertenecientes a la familia de las quinolonas, carbapenemas, aminoglucósidos o cefalosporinas de segunda o tercera generación.

Identificación en el laboratorio.

La identificación en el laboratorio se la realiza primordialmente por medio de cultivos microbiológicos, sembrando las muestras en Agar sangre, Mac Conkey o Desoxycholato de Sodio y ser incubados en aerobiosis y anaerobiosis. Los cultivos se observaron por crecimiento a las 24 horas, tiempo en el cual generalmente se observa crecimiento, una vez observado el crecimiento de las colonias características, se procede a la siembra en distintos medios de diferenciación (serie bioquímica) estas reacciones llevadas a cabo en distintos medios permiten la identificación del microorganismo.

Las reacciones observadas son: En medio TSI; reacción acida - acida, en SIM: movilidad positiva; Indol negativo, H₂S positiva, citrato de Simmons positivo, ureasa negativa, lactosa positiva o negativa a veces sorbitol positivo, arabinosa positivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo y transversal.

Universo

Usuarios de los laboratorios de servicios de salud de la UNL, periodo Octubre 2011-Abril 2012

Muestra

50 mujeres en edad fértil que acudieron al Hospital Universitario de Motupe y al Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de la UNL, durante el periodo Octubre 2011-Abril 2012

Criterios de inclusión

- Mujeres en edad fértil que deseen colaborar con la investigación.
- Mujeres en edad fértil que requieran mediante pedido un urocultivo.
- Que no hayan ingerido antibióticos por lo menos 30 días antes de la toma de muestra.

Criterios de exclusión

- Pacientes que no deseen colaborar con la investigación.
- Muestras de orina que no cumplan los criterios básicos para la aceptación de muestras.
- Mujeres que hayan tomado antibióticos en los últimos 30 días.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

- Observación.
- Ficha de recolección datos. (Anexo 5)
- Registros. (Anexo 6)
- Cámara fotográfica.

Procedimiento

Como primer paso para iniciar el desarrollo de la presente investigación se solicitó la autorización respectiva al director(a) del Hospital Universitario de Motupe. (Anexo 7)

De la misma forma se procedió para solicitar la autorización respectiva al Director del Laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, lugar en donde se llevó a cabo los procedimientos analíticos que implicaron el desarrollo de la presente investigación (Anexo 8)

Una vez conseguidas las autorizaciones respectivas se dio inicio a la recolección de muestras para su estudio, siguiendo las fases correspondientes para el análisis microbiológico de calidad:

Fase pre analítica

Esta fase incluye todas las consideraciones generales del paciente, de una muestra óptima y de sus condiciones para el posterior análisis.

En esta fase tomamos en cuenta los siguientes aspectos.

- ❖ El paciente debe ser informado en forma clara y sencilla de acuerdo a su grado de instrucción sobre los procedimientos a realizar.
- ❖ Recolección de la muestra. (Anexo 9)
- ❖ Identificación del paciente y muestra.
- ❖ Transporte y almacenamiento de las muestras. (Anexo 10)
- ❖ Criterios de rechazo de las muestras. (Anexo 4)

Fase analítica

La fase analítica corresponde al análisis microbiológico propiamente dicho para lograr la identificación de las bacterias presentes en las muestras cultivadas.

Esta fase incluye los siguientes aspectos:

- Contar con todas las medidas de bioseguridad necesarias que suponen los procedimientos de identificación microbiológicos. (Anexo 11)

- Contar con los equipos y materiales necesarios para un cultivo de orina. (Anexo 12)
- Elección del medio de cultivo apropiado para un urocultivo. (Anexo 13)
- Siembra primaria de la muestra de orina. (Anexo 14)
- Contaje de colonias en las placas tras 24 horas de incubación. (Anexo 15)
- Realizar una coloración de Gram para identificar la morfología y tipo de bacterias.

Según se observó y estableció como Gram positivas o Gram negativas se realizan pruebas bioquímicas específicas para cualquiera de los dos grupos de bacterias.

Se procedió a realizar cuatro pruebas bioquímicas básicas para bacterias Gram negativas. (Anexo 16)

- Realizamos la prueba de fenilalanina desaminasa. (Anexo 17)
- Realizamos la prueba en medio TSI. (Anexo 18)
- Realizamos la prueba en medio SIM. (Anexo 19)
- Realizamos la prueba en el agar Citrato de Simmons. (Anexo 20)
- Al haber observado y registrado los resultados obtenidos en los ensayos bioquímicos, se hace una comparación con las tablas de identificación para bacterias Gram negativas. (Anexo 21)

Pruebas bioquímicas básicas para identificar bacterias Gram positivas.

- Realizamos la prueba de la catalasa y diferenciamos el género *Staphylococcus* del género *Streptococcus* (Anexo 22)
- Realizamos la prueba de la coagulasa para separar los *Staphylococcus* coagulasa positivo de los negativos. (Anexo 23)
- Realizamos la prueba de la novobiocina para separar el *S. epidermidis* del *S. saprophyticus*. (Anexo 24)

Aquellas bacterias que resultan negativas a la prueba de la catalasa se las considera como *streptococos*, y en ellas se observa el tipo de hemólisis en el agar sangre: alpha, beta o gamma hemólisis. (Fig. 1)

- *Las bacterias que presentan alpha o gamma hemólisis, serán sometidas a la prueba de la resistencia a la optoquina. (Anexo 25)
- *Podemos confirmar el *S. pneumoniae*, si el halo de inhibición en la prueba de la optoquina fue dudoso, realizando la prueba de solubilidad en bilis. (Anexo 26)
- *Las bacterias que presentan beta hemólisis, son sometidas a las pruebas de: Adenosin Monofosfato Ciclico (CAMP), resistencia al Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT), resistencia a la bacitracina y prueba de Pirrolidonil β -Naftilamida (PYR).
- *Realizamos la prueba del CAMP. (Anexo 27)
- *Realizamos la prueba de resistencia al SXT. (Anexo 28)
- *Realizamos la prueba de resistencia a la bacitracina. (Anexo 29)
- *Realizamos la prueba de hidrólisis de PYR. (Anexo 30)
- *Podemos realizar además la prueba de bilis esculina (Anexo 31)
- Identificamos la bacteria basándonos en el flujograma para bacterias Gram positivas (Anexo 32)

Fase pos analítica.

Esta fase comprende los procesos que involucran la parte del manejo de los resultados, su transcripción, archivo, conservación y reporte final.

Además incluye la eliminación de desechos, control de calidad de los resultados y su validación. (Anexo 33)

Tabulación de resultados y Análisis de datos

Se realizó mediante la utilización de una hoja de cálculo (MICROSOFT EXCEL), en la cual se ingresó los datos obtenidos en el estudio de campo, que corresponden a la cantidad de muestras obtenidas y el porcentaje respectivo para cada bacteria identificada.

Se presentó en tablas y gráficos que representen la frecuencia respectiva a cada una de las bacterias causantes de infecciones de vías urinarias.

* Pruebas bioquímicas no aplicadas en esta investigación por no encontrarse *Streptococos*

RESULTADOS

TABLA N° 1

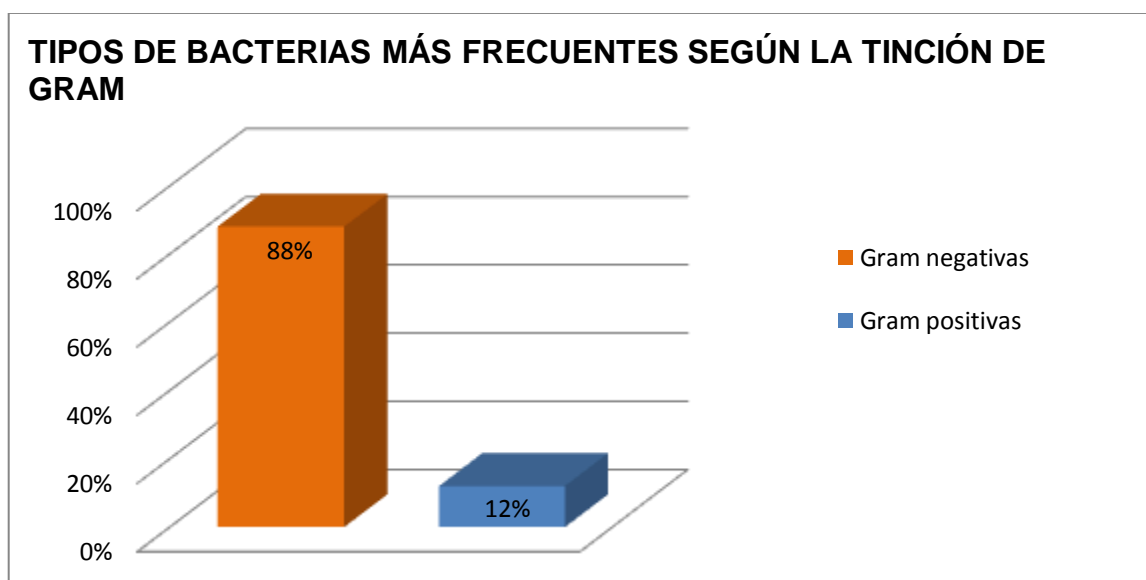
TIPOS DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES SEGÚN LA TINCIÓN DE GRAM

Tipos de bacterias	Frecuencia	Porcentaje
Bacterias gram negativas	44	88 %
Bacterias gram positivas	6	12 %
Total	50	100 %

Elaborado por: Marlon Junior Delgado Calva

Fuente: Registros de muestras de urocultivos de la tesis "Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012."

GRAFICO N° 1



Elaborado por: Marlon Junior Delgado Calva

Fuente: Registros de muestras de urocultivos de la tesis "Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012."

Interpretación

De acuerdo a la tabla N°1; se establece que de 50 muestras de orina cultivadas se encontró 44 crecimientos correspondientes a bacterias gram negativas equivalentes al 88 %, mientras que 6 crecimientos bacterianos corresponden a bacterias gram positivas representando el 12 % de cultivos.

TABLA Nº 2

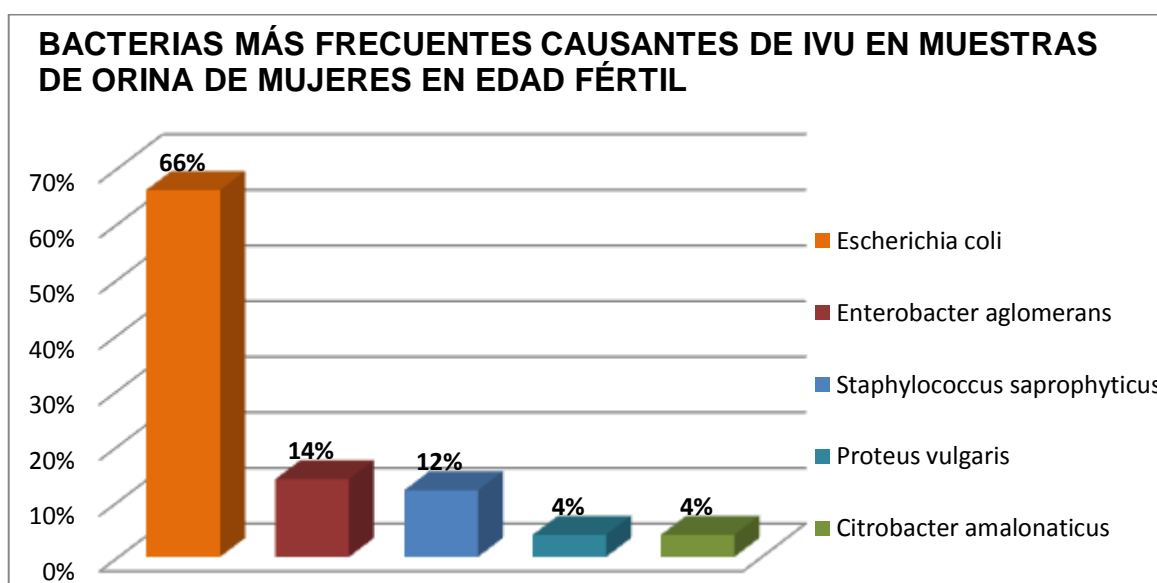
BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUESTRAS DE ORINA DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL

Microorganismo	Frecuencia	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	33	66 %
<i>Enterobacter agglomerans</i>	7	14 %
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	6	12 %
<i>Proteus vulgaris</i>	2	4 %
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	2	4 %
Total	50	100 %

Elaborado por: Marlon Junior Delgado Calva

Fuente: Registros de muestras de urocultivos de la tesis "Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012."

GRAFICO Nº 2



Elaborado por: Marlon Junior Delgado Calva

Fuente: Registros de muestras de urocultivos de la tesis "Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012."

Interpretación

De acuerdo a la tabla Nº 2; de los 50 cultivos realizados se evidencia claramente una superioridad del 66% de crecimientos correspondientes a *Escherichia coli*, sobre el resto de crecimientos bacterianos.

DISCUSIÓN

La presente investigación titulada: Identificación de bacterias más frecuentes causantes de IVU en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicios de salud de la UNL. Periodo Octubre 2011-Abril 2012, fue un estudio de tipo descriptivo y transversal, realizado en el Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, misma investigación que tenía como propósitos; la caracterización e identificación de las bacterias más frecuentes causantes de infecciones de vías urinarias en mujeres de edad fértil que acuden a los laboratorios de servicio de salud de la UNL.

Para identificar estas bacterias se realizó cultivos de orina de aquellas mujeres que mediante pedido se les solicitó un urocultivo, de tal forma se realizaron todos los procedimientos de laboratorio pre analíticos, analíticos y pos analíticos para identificar dichas bacterias

Los resultados obtenidos en esta investigación evidencian que existe una prevalencia del 66% de infecciones de vías urinarias causadas por la bacteria *Escherichia coli*, un 14% de estas infecciones causadas por *Enterobacter agglomerans*, un 12% por *Staphylococcus saprophyticus*, un 4% por *Citrobacter amalonaticus* y otro 4% atribuido a *Proteus vulgaris*.

Los agentes etiológicos más frecuentes de IVU a nivel comunitario son los bacilos gram negativos como *Escherichia coli* que causa el 80-90% de las infecciones, seguido de *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, bacterias que hacen parte de un grupo bacteriano taxonómicamente conocido como Familia *Enterobacteriaceae*, mientras que *Staphylococcus saprophyticus* es la bacteria gram positiva causante de IVU en mujeres jóvenes sexualmente activas.⁽³¹⁾

En Latinoamérica existen muchas investigaciones dirigidas a identificar los patógenos más frecuentes causante de IVU, en los que de igual forma se evidencia una clara superioridad de infecciones causadas por Enterobacterias frente a infecciones causadas por bacterias gram positivas, estos estudios realizados en distintos países y aunque tomando distintas poblaciones diana como muestra, mantienen una relativa coincidencia en sus resultados.

Fernando Dalet y Gerardo del Rio en su obra "Infecciones de vías urinarias", establecen que la etiología de las infecciones urinarias esta restringida a cinco patógenos: *E. coli*, *P. mirabilis*, *Klebsiella spp*, *S. saprophyticus* y a *Enterobacter spp*. De los cuales el primero supone el 87,5% de los casos, *S. saprophyticus* el 6,5 %, siendo este la segunda especie más frecuente, *P. mirabilis* un 4 %, *Klebsiella spp* 1 %, *Enterobacter spp* 0,5 % y otros un 0,5 %.⁽³⁾

Konematsu, en un estudio realizado en el Hospital del Seguro Social en México sobre 499 mujeres con cistitis simple encontró incidencias prácticamente superponibles, en la que los resultados obtenidos fueron de un 81,1 % *E. coli*, el 11,2 % *S. saprophyticus*, mientras que *Proteus spp* representa el 3 %, *Klebsiella spp* 2,5 % y *Enterobacter spp* 1.5 %.

En un estudio realizado en la Universidad Nacional de Colombia se encontró que el germen más frecuentemente aislado corresponde a: *E. coli* en un 88.9 %, *Proteus spp.* 5,1 %, *Klebsiella spp.* 3,7 %, *Enterobacter spp.* 1 %, *Citrobacter spp.* 1 % y *Staphylococcus saprophyticus* 0,3 %.⁽²³⁾

Los estudios antes mencionados y realizados en Latinoamérica concuerdan casi en su totalidad con los porcentajes encontrados para las bacterias más frecuentes causantes de infecciones de vías urinarias en la comunidad. Es así que tenemos que en estas investigaciones se ubica a *E. coli* como el patógeno urinario predominante como causante de IVU con un porcentaje superior al 80 % de casos, en contraste con esta investigación existe gran concordancia al ser el patógeno urinario de mayor frecuencia con un 66 %.

El segundo microorganismo, del género *Enterobacter* en esta investigación tiene un porcentaje de 14 %, mientras que al compararlas con las referencias estadísticas antes mencionadas que promedian el 1% de casos, tiene una discrepancia considerable pudiendo ser causa de esta divergencia el hecho de que estas investigaciones fueron realizada hace algún tiempo ya considerable y abordando distintas poblaciones.

Staphylococcus saprophyticus en esta investigación ocupa el tercer lugar con un 12 % de las infecciones, teniendo gran similitud con los referentes pre establecidos por Konematsu, en los cuales ocupa el segundo lugar como causante de IVU.

Proteus vulgaris y *Citrobacter amalonaticus* ocupan un 4 % de casos cada uno, siendo el primero uno de los patógenos de gran frecuencia encontrado en las estadísticas referentes a IVU, lo que refuerza los hallazgos hechos en esta investigación, mientras que el segundo es un microorganismo de escasa frecuencia contemplado en las investigaciones, se lo ubica en algunas referencias como causante de IVUs únicamente en personas inmunológicamente comprometidas, pudiendo ser esta la respuesta a la igualdad de porcentaje entre *P. vulgaris* y *C. amalonaticus*.

Del género *Klebsiella* no se obtuvo crecimiento en ninguno de los medios empleados para el urocultivo, ya que este microorganismo es un patógeno causante de infecciones en vías respiratorias en pacientes hospitalizados con mayor frecuencia, y cuando llega a afectar vías urinarias lo hace como agente oportunista, especialmente en el caso de pacientes inmunocomprometidos, además la mayoría de infecciones reportadas son de origen nosocomial.

CONCLUSIONES

- Se caracterizó los patógenos urinarios, encontrando que el 88 % de infecciones de vías urinarias en mujeres de edad fértil son causadas por bacterias gram negativas, y un 12 % por bacterias gram positivas.
- La prevalencia de bacterias causantes de IVU en mujeres de edad fértil corresponden en un 66 % a *Escherichia coli*, 14 % a *Enterobacter agglomerans*, 12 % a *Staphylococcus saprophyticus*, 4 % a *Proteus vulgaris*, y otro 4 % *Citrobacter amalonaticus*.
- Los resultados obtenidos en la presente investigación han sido sustentados y puestos a consideración del estudiantado de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

RECOMENDACIONES

- ❖ Es importante que la las autoridades de la Universidad Nacional de Loja a través de su carrera de Laboratorio Clínico continúe realizando estudios similares a este, y profundizándolos, utilizando diferentes grupos poblacionales o grupos etarios, con el fin de establecer más estadísticas relacionadas a nuestro medio.
- ❖ Es recomendable realizar un examen microscópico de gota fresca para considerar la posibilidad de cultivar las muestras, puesto que la mayoría de muestras que resultan negativa en esta prueba no presentan crecimiento en el cultivo.
- ❖ Es importante incubar 48 horas completas las pruebas bioquímicas en las que se evidencia desdoblamiento de carbohidratos, ya que en algunos de los casos las bacterias son de fermentación lenta y se requiere mas de 24 horas para observa un verdadero cambio cromogénico.
- ❖ Utilizar preferentemente cajas petri descartables y estériles en lugar de las de vidrio, de esta manera se evita reutilizarlas y la posibilidad de contaminación de los medios de cultivo por mala esterilización.
- ❖ Registrar las características macroscópicas de las colonias, puesto que estas nos pueden dar una pauta significativa para su posterior identificación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bailey y Scott. Diagnostico microbiológico, 11ava. Ed. Buenos aires-Argentina. Editorial médica panamericana 2004. Pág.: 70, 78-81, 104-110
2. Campbell, W. Urología. 9na. Ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2008. Pág. 227-228
3. Fernando, D. Infecciones urinarias. 1era Ed. España. Editorial Médica panamericana 1998. Pág. 15,166
4. Gamazo, C. Manual práctico de microbiología. 3era. Ed. Barcelona – España. Editorial Masson 2005. Pág.: 101-104.
5. Jawetz, M. Microbiología medica, 18ava. Ed. Barcelona-España. Editorial Masson. 2005 pág. 163-169.
6. Koneman, E. Diagnostico microbiológico. 6ta. Ed. Buenos aires-Argentina. Editorial medica panamericana. 2008. Pág.: 224-238, 253, 609, 610,1412.
7. Lodish, H. Biología celular y molecular; 4ta. Ed. Madrid-España. 2002. Editorial medica panamericana. Pág.: 3-5
8. Mac Faddin, JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3era. Ed. Buenos aires-Argentina. Editorial medica panamericana 2003. Pág.: 226-228.
9. Mandel, D. Enfermedades infecciosas Principios y práctica. 6ta. Ed. España. Editorial Elsevier. 2006. Págs.: 2573-2575.
10. Murray, P. R. Microbiología médica. 6ta. Ed. España. Elsevier. 2009. Pág.: 301-309, 3013-315
11. Palacios, S. Salud y medicina de la mujer. 5ta. Madrid- España. Editoeial Harcourt. 2006. Pags: 69,70.
12. Perinat, A. Los adolescentes en el siglo XXI. 1er. Ed. Barcelona-España. Editorial UOC. 2005. Pags: 142-145.
13. Pratz, G. Microbiología clínica. 1era. Ed. Madrid-España. Editorial medica panamericana 2005. Pág.: 33-39.
14. Romero Cabello, R. Microbiología y parasitología humana. 3erEd. México 2007. Editorial medica panamericana. Pág.: 753-764, 806,808,809

15. Struthers, JK. Bacteriología clínica. 8va. Ed. España. Editorial Masson 2005. Pág.: 8-11,135-141.
16. Thomas, D. Microbiología medica, 2da. Ed. México. Editorial Interamericana 1993; pág. 185-189.
17. Tortora GJ, Derrickskon B. Principios de Anatomía y Fisiología. 11ª Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006.

Referencias electrónicas:

18. Rodríguez, G. "Géneros Estreptococos y Enterococos" Disponible en: (<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/StreptococcusyEnterococcus.pdf>). Junio del 2008.
19. Antón, M. Esteban, R. Ortés, R. "Infección urinaria" Disponible en: (http://www.segg.es/tratadogeriatría/PDF/S35-05%2042_III.pdf). 3 de Septiembre del 2011; 10:50
20. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, Vol. 3, 2005 "Staphylococcus saprophyticus como patógeno urinario" Disponible en: (<http://www.iics.una.py/n/pdf/revista/18.pdf>). Agosto del 2005.
21. Seija, V. "COCOS GRAM POSITIVOS: "Aspectos prácticos" Disponible en: (http://www.educa2.madrid.org/cms_tools/files/6046b373-a0b6-4737-8f6b-4553dfefcd53/18.-%20Tablas%20GRAM%20POSITIVOS.pdf). 3 de Septiembre del 2011; 16:00
22. Sacsquispe, R "Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias" Disponible en: (<http://spe.epiredperu.net/SE-IIH/12%20MANUAL%20PROCEDIMIENTOS/20%BACTERIOLOGICOS%20IIH.pdf>). 4 de Septiembre del 2011; 11:10
23. Aranguren, M. "Identificación de enterobacterias" Disponible en: (<http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentos/Microbiologia/Docs/IDENTIFICACION%20DE%20ENTEROBACTERIAS1.pdf>) 8 de Septiembre del 2011; 15:30
24. Luis, B "Infecciones de vías urinarias en el Hospital Universidad del Norte" Disponible en: (http://ciruelo.uninorte.edu.co/pdf/salud_uninorte/23-

1/3_Infecciones%20de%20las%20vias%20urinarias.pdf) 11 de Marzo del 2012; 17:00

25. Jose, A "Infecciones de vías urinarias" Disponible en: (http://www.diariosalud.net/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=9102) Junio del 2008
26. Derrick, J "Infecciones de importancia clínica". Disponible en: (<http://www.terra.com.mx/mujer/articulo/901775/Infecciones+en+vias+urinarias+son+las+segundas+mas+frecuentes+en+mujeres.htm>) 4 de Marzo del 2012; 19:15
27. S.N. "Infecciones urinarias un problema de salud en México poco atendidas". Disponible en: (<http://www.lasalud.com.mx/2008/05/28/Incontinencia/Infecciones.de.v/3120.html>) 4 de Marzo 18:40
28. Revista de salud pública Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: (<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/422/42280205.pdf>) 11 de Marzo del 2012; 18:00
29. Erik, S "Infecciones de vías urinarias en pediatría" Disponible en: (http://www.urologocirujano.com/site/index.php?option=com_content&view=article&id=45&Itemid=32) 11 de Marzo del 2012; 18:30
30. Montoya, J y Agudelo, A "Enfermedades propias de la mujer". Disponible en (<http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/Documentos/MedInt/INFECION%20URINARIA%20PARA%20EDUBLOG.pdf>) 11 de Marzo del 2012; 19:00
31. Ramos, J " Aplicación del método Dáder en pacientes ambulatorios con infecciones de vías urinarias que asisten al área de ginecología del Hospital San Vicente de Paúl de Ibarra periodo noviembre - agosto 2010" Disponible en(http://www.inec.gov.ec/interna.asp?inc=enc_tabla&idTabla=636200605) 4 de Marzo del 2012; 19:40

ANEXOS

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1** Coloración Gram
- Anexo 2** Características de bacterias Gram negativas causantes de IVU
- Anexo 3** Características generales del *S. saprophyticus*
- Anexo 4** Criterios para el rechazo de muestras
- Anexo 5** Ficha de recolección de datos
- Anexo 6** Registro de resultados
- Anexo 7** Solicitud al director del Hospital Universitario de Motupe
- Anexo 8** Solicitud al coordinador del CDM del ASH
- Anexo 9** Recolección de la muestra
- Anexo 10** Transporte y conservación de la muestra
- Anexo 11** Normas de bioseguridad para el laboratorio de microbiología
- Anexo 12** Materiales y equipos para un cultivo de orina
- Anexo 13** Elección del medio de cultivo
- Anexo 14** Siembra primaria de la muestra de orina
- Anexo 15** Lectura de las placas
- Anexo 16** Pruebas bioquímicas para Gram negativas
- Anexo 17** Fenilalanina desaminasa
- Anexo 18** Agar TSI (Triple azúcar hierro)
- Anexo 19** Agar SIM (Sulfuro de hidrógeno, indol, motilidad)
- Anexo 20** Agar citrato de Simmons
- Anexo 21** Identificación bioquímica de bacterias más frecuentes
- Anexo 22** Prueba de catalasa

- Anexo 23** Prueba de coagulasa
- Anexo 24** Resistencia a la novobiocina
- Anexo 25** Resistencia a la optoquina
- Anexo 26** Solubilidad en bilis
- Anexo 27** Prueba CAMP (Factor de adenosin monofosfato cíclico)
- Anexo 28** Resistencia al SXT (Trimetoprim-sulfametoxazol)
- Anexo 29** Resistencia a la bacitracina
- Anexo 30** Hidrólisis del PYR (Pirrolidonil β -Naftilamida)
- Anexo 31** Bilis esculina
- Anexo 32** Pruebas bioquímicas para identificar bacterias Gram positivas
- Anexo 33** Condiciones a tener en cuenta en la fase pos-analítica
- Anexo 34** Preparación de medios de cultivo
- Anexo 35** Siembra en medios de cultivo
- Anexo 36** Crecimiento en medios de cultivo
- Anexo 37** Tinción de placas con Gram
- Anexo 38** Bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa
- Anexo 39** Resultados en medio TSI
- Anexo 40** Resultados en medio SIM
- Anexo 41** Resultado en medio Citrato de Simmons
- Anexo 42** Resultado en medio Fenilalanina desaminasa
- Anexo 43** Prueba de catalasa
- Anexo 44** Prueba de coagulasa
- Anexo 45** Prueba de resistencia a la novobiosina

Anexo 46 Personal del CDM-ASH

Anexo 47 Difusión de resultados

Anexo 1

Coloración de Gram

- Preparar un extendido fino del material en estudio y dejarlo secar al aire.
- Fijar el material al portaobjeto de modo que no sea arrastrado durante el proceso de tinción, pasando rápidamente el portaobjeto 3 o 4 veces por la llama del mechero o con metanol y dejar secar.
- Colocar el preparado sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de cristal violeta..
- Colorear un minuto y lavar con agua de caño.
- Cubrir la lámina con lugol de Gram durante un minuto. Lavar nuevamente con agua.
- Sostener el portaobjeto entre el pulgar y el índice y bañar la superficie con unas gotas de alcohol acetona hasta no arrastrar más colorante violeta. Generalmente requiere de unos diez segundos o menos.
- Lavar con agua de caño y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte.
- Cubrir la superficie con safranina durante un minuto. Lavar con agua de caño.
- Dejar secar la lámina.
- Examinar la lámina coloreada al microscopio con objetivo 100 x de inmersión (aceite).

Anexo 2

Características bioquímicas de bacterias Gram - causantes de IVU

	<i>E. coli</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Klebsiella spp.</i>
Morfología y tinción	Bacilos Gram -	Bacilos Gram -	Bacilos Gram -
Movilidad	+	+	-
Catalasa	+	+	+
Oxidasa	-	-	-
Nitratos a nitritos	+	+	+
Rojo de metilo	+	+	-
Voges Proskauer	-	-	+
TSI o KIA	A/A	K/A	A/A
Gas	+	+	+
H ₂ S	-	+	-
Citrato	-	+	+
Ureasa	-	+	+
Fenilalanina desaminasa	-	+	-
Indol	+	*+	-
Lisina decarboxilasa	+	-	+
Lisina desaminasa	-	+	-
Licuefac. de la gelatina	-	+	-

A=ácido; K=alcalino; +Reacción positiva; -Reacción negativa; *Excepto *P.*

mirabilis

Anexo 3

Características generales del *S. saprophyticus*

Morfología y tinción	Cocos Gram +
Motilidad	Negativo -
Relación con el O ₂	Aerobios – Anaerobios Facultativos
Catalasa	+
Coagulada	-
DNAsa	-
Novobiosina	R
Utilización de la glucosa	+
Ureasa	+

+, Reacción positiva; -, reacción negativa; R, resistente

Anexo 4

Criterios para el rechazo de muestras

Debe controlarse cada hoja de pedido y etiqueta de la muestra para ver si se ha incluido toda la información esencial.

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

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

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

En casos de muestras rechazadas el personal de laboratorio debe explicar al médico solicitante las razones y observaciones en la ficha de solicitud de diagnóstico correspondiente. En el caso de muestras que no puedan ser obtenidas nuevamente, se puede recibir la muestra colocando una notificación sobre lo observado.

Anexo 5

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Datos generales

N°.....

Lugar Fecha.....

Apellidos..... Nombres.....

Edad.....

Lugar de residencia

.....

Zona:

Urbana

Rural

Nivel de instrucción

Primaria

Secundaria

Superior

Trabajo u ocupación

.....

.....

Observaciones:

.....

.....

.....

.....

Anexo 6

REGISTROS

Muestra

Número de muestra o código.....

Observaciones.....
.....
.....

Cultivo

Fecha y hora de la
siembra.....

Medios de cultivo
empleados.....

Crecimiento en 24-48 h a 37 °C

Crecimiento en medio de
agar:.....

UFC/ml.....

Características del
cultivo.....
.....

Características microscópicas y GRAM
.....
.....

**PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA
GRAM NEGATIVAS**

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Microorganismo aislado:

.....

**PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA
GRAM POSITIVAS**

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Microorganismo aislado:

.....

Anexo 7

Loja, 20 de Octubre del 2011

Dr.

Rodrigo Ludeña.

DIRECTOR DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MOTUPE

Ciudad.-

De mi consideración.

Yo, **MARLON JUNIOR DELGADO CALVA**, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja; me dirijo a usted de la manera más comedida para solicitarle se digne concederme la autorización pertinente para la realización del trabajo de campo, necesario en el trabajo de investigación denominado: **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MOTUPE. PERIODO SEPTIEMBRE 2011-MARZO 2012”**, con miras a la obtención de mi título profesional.

Esperando ser atendido favorablemente en mi petición, le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente,

.....

Marlon Junior Delgado Calva

ESTUDIANTE

Anexo 8

Loja, 26 de Octubre del 2011

Lic.

Angel Luzón.

**JEFE DEL LABORATORIO CLÍNICO DEL CENTRO DE DIAGNÓSTICO DEL
ÁREA DE SALUD HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

Ciudad.-

De mi consideración.

Yo, **MARLON JUNIOR DELGADO CALVA**, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja; me dirijo a usted de la manera más comedida para solicitarle se digne concederme la autorización pertinente para la realización del trabajo de laboratorio, necesario en el proyecto de investigación denominado: **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS MÁS FRECUENTES CAUSANTES DE IVU EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MOTUPE. PERIODO SEPTIEMBRE 2011-MARZO 2012”**, con miras a la obtención de mi título profesional.

Esperando ser atendido favorablemente en mi petición, le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente,

.....

Marlon Junior Delgado Calva

ESTUDIANTE

Anexo 9

Recolección de la muestras de orina para urocultivo

Obtener la muestra antes del inicio de la terapia con medicamentos. Si el paciente ya hubiera recibido alguna dosis del antimicrobiano al momento de obtener la muestra, debe informarse al respecto.

Se debe obtener la muestra en frasco estéril, de boca hancha y de cierre hermético.

Lavarse las manos con jabón y abundante agua.

Realizarse una limpieza de los genitales con agua y una pequeña cantidad de jabón.

Limpiar el área expuesta de adelante hacia atrás pasando una toalla empapada en agua tibia.

Secar los genitales de adelante hacia atrás con una toalla seca.

Mantener separados los labios mayores mientras se empieza a orinar, descartar el primer chorro y recolectar el chorro intermedio.

Se debe recolectar como mínimo 10 ml de orina.

Al terminar de orinar, inmediatamente tapar el frasco y limpiar la superficie del mismo.

Transportar el frasco con la muestra de orina inmediatamente al laboratorio.

Anexo 10

Transporte y conservación de las muestras

Enviar las muestras al laboratorio inmediatamente después de haber sido obtenidas para su procesamiento, con el objeto de incrementar la probabilidad de recuperación de los microorganismos involucrados en el proceso infeccioso.

La muestra debe ser procesada dentro de las 2 horas después de haber sido obtenida o debe refrigerarse a 4° C (máximo 24 horas) hasta su procesamiento.

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

Evitar cualquier derrame y por lo tanto los riesgos que de ello se derivan.

Anexo 11

Normas de bioseguridad para el laboratorio de microbiología

- El acceso al laboratorio debe estar restringido únicamente al personal calificado y autorizado.
- No se debe ingresar en estado etílico o bajo la influencia de algún estupefaciente.
- No ingresar alimentos ni bebidas al laboratorio.
- Al ingresar al laboratorio despojarse de aretes, relojes, anillos y maquillajes, de ser necesario los cabellos recogidos.
- El personal que ingresa al laboratorio de microbiología debe contar con las barreras físicas de autoprotección personal (gafas, gorro, mascarilla, guantes, mangas protectoras, traje protector, mandíl.)
- Todos los procedimientos que implican trabajar con muestras potencialmente infecciosas o materiales estériles deben realizarse dentro de la cámara de bioseguridad, o cerca de un mechero.
- La vestimenta que no se descarta debe permanecer únicamente para el trabajo dentro del laboratorio.
- El lavado de manos con abundante agua y jabón debe realizarse al entrar y abandonar el laboratorio.
- No abandonar el laboratorio con las vestimentas si no se ha culminado todos los procedimientos necesarios.
- No contestar celulares ni manipular objetos de uso personal mientras se trabaja en el laboratorio de microbiología.
- Todos los accidentes sufridos dentro del laboratorio deben ser registrados y comunicados al personal responsable del manejo de accidentes.

Anexo 12

Materiales y equipos para un cultivo de orina

- a) Asa calibrada de platino o descartable de 0.001mL, 0.01 mL
- b) Estufa de 35 – 37° C
- c) Autoclave
- d) Mechero Bunsen o Cabina de Flujo laminar
- e) Guantes de látex
- f) Contenedor de material contaminado
- g) Pinza estéril
- h) Propipeta o pipetor automático
- i) Medios de cultivo:
 - Placas con agar sangre (AS)
 - Placas con agar Mc Conkey (McC)

Anexo 13

Elección del medio de cultivo

Para la identificación bacteriana mediante urocultivo podemos emplear los medios de cultivo de agar sangre y agar Mac Conkey.

AGAR MAC CONKEY (McC). Es un medio selectivo por contener sales biliares y cristal violeta que inhiben el crecimiento de bacterias no entéricas. Es también un medio diferencial, porque contiene lactosa y un indicador de pH. Las bacterias capaces de fermentar este azúcar producirán un cambio en el pH del medio por la liberación de productos ácidos. Como consecuencia sus colonias aparecerán de color violeta, contrastando con la coloración amarillenta de las colonias de bacterias no fermentadoras de lactosa.

AGAR SANGRE(AS). Es un medio general rico en nutrientes, por lo que permitirá el crecimiento de una amplia variedad de bacterias. Además es un medio diferencial, ya que permite comprobar si la bacteria es capaz de hemolizar los eritrocitos del medio de cultivo.

Algunas bacterias, sobre todo los estreptococos, pueden romper los hematíes de la sangre (Hemólisis). Si la hemólisis que se produce es total, se denomina beta-hemólisis; si es parcial alfa-hemólisis, y cuando no existe, se habla de hemólisis tipo gamma.

Los tres tipos de hemólisis se manifiestan de la siguiente manera:

α -hemólisis: Halo verde alrededor de la colonia, debido a una destrucción parcial de los hematíes.(figura a)

β -hemólisis: Halo intensamente claro alrededor de la colonia por la lisis total de los hematíes.(figura b)

γ -hemólisis: Ausencia de halo claro. (figura c)

Figura a. α -hemólisis

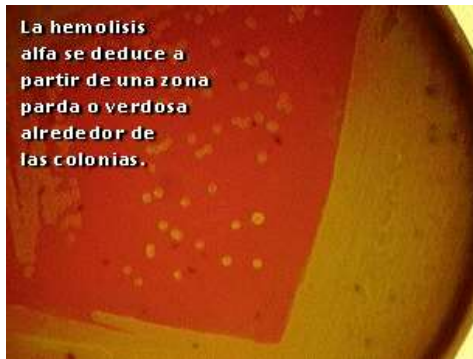


Figura b. β -hemólisis

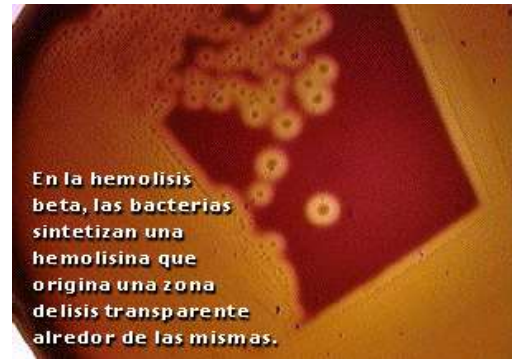


Figura c. γ -hemólisis



Anexo 14

Siembra primaria de la muestra de orina

Procedimiento

- a) Mantener las muestras en refrigeración (4° C) hasta su procesamiento por cultivo.
- b) Los cultivos deben realizarse en una cabina de bioseguridad o cerca del mechero Bunsen.
- c) Las placas con AS y McC que se utilizarán en el urocultivo deben estar a temperatura ambiente. Rotular las placas.
- d) Si el asa calibrada no es descartable, esterilizar el asa de siembra flameándola en el mechero Bunsen hasta que se ponga al rojo vivo. Dejar enfriar el asa unos 20 segundos.
- e) Tomar el frasco con la muestra de orina, abrir la tapa y flamear la boca del frasco en el mechero Bunsen.
- f) Tomar la muestra de orina con el asa de siembra estéril introduciéndola y sacándola del frasco en forma vertical (Véase Figura 2a). Tapar el frasco con la muestra.
- g) Inocular en el centro de la placa con AS a partir del cual se extiende la muestra, hacia delante y hacia atrás (Véase Figura 2b).
- h) Luego, sin quemar el asa, el inóculo se disemina uniformemente con trazos perpendiculares a la siembra inicial en toda la placa (Véase Figura 2c).
- i) Proceder de la misma forma para el agar Mc Conkey.
- j) Esterilizar el asa de siembra en el mechero.
- k) Concluida la siembra, cerrar la placa y colocarla con la parte que tiene el medio de cultivo hacia arriba. Incubar la placa de AS y Mc Conkey a 35 - 37° C en condiciones aeróbicas por 24 horas.

Figura 2: Método para sembrar con asa calibrada

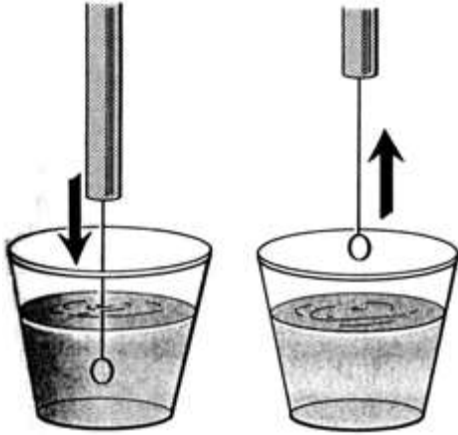


Figura 2a. Método para introducir el asa calibrada en la muestra de orina para asegurar que se retire una cantidad apropiada.

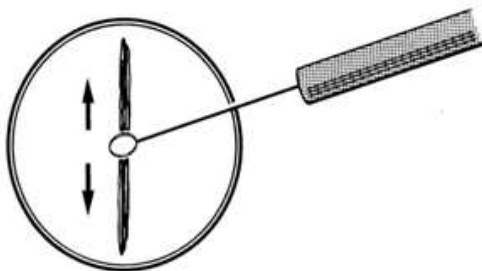


Figura 2b. Inocular en el centro de la placa a partir del cual se extiende la muestra, hacia delante y hacia atrás

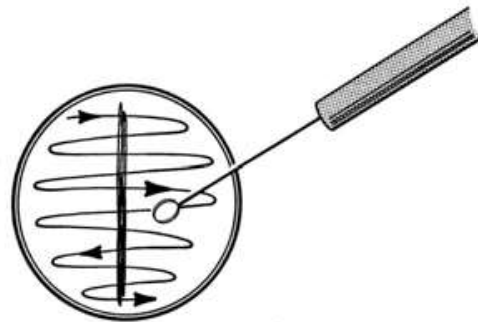


Figura 2c. Sin flamear el asa estriar atravesando la línea del inoculo en el sentido de las flechas.

Anexo 15

Lectura de las placas

Realizar la evaluación a las 24 horas, si no hay crecimiento bacteriano dejar incubar hasta las 48 horas.

La evaluación consiste en el recuento de colonias y se multiplica por el factor de dilución para obtener las UFC por mL.

Asas de siembra recomendadas para muestras de orina		
Asa recomendada	Factor de dilución	Recuento total
0.001 ml (*)	1000	UFC/ml
0.01 ml (**)	100	UFC/ml

(*) Una colonia = 1000 UFC/ mL

Se considera bacteriuria significativa de infección, la cuenta de más de 10^5 UFC / mL de un solo germen.

Los recuentos intermedios (10^3 - 10^4 UFC / mL) indican contaminación de la muestra por bacterias procedentes de la uretra y meato urinario.

Generalmente, el aislamiento de tres o mas especies bacterianas indican que la muestra se ha contaminado por recolección inadecuada o demora en la siembra.

En muestras obtenidas por punción suprapúbica, el desarrollo de una sola colonia en el medio de cultivo indica infección del tracto urinario.

Anexo 16

Pruebas bioquímicas para Gram negativas

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Phe. desaminasa; (figura 3a)

- Positivo: color rosado
- Negativo: mantiene el color

TSI o kligler: (figura 3b)

- Fermentación de azúcares
- Gas
- Formación de ácido sulfhídrico

SIM:

- Movilidad (figura 3 e)
- Formación de ácido sulfhídrico
- prueba de Indol (figura 3 c)
Indol Positivo: anillo rojo
Negativo: amarillo

Citrato: (figura 3d)

- Positivo: color azul y crecimiento
- Negativo: mantiene color

Figura 3 Pruebas bioquímicas para bacterias Gram negativas

Figura 3a. Phe. desaminasa



Figura 3b. TSI o Kligler

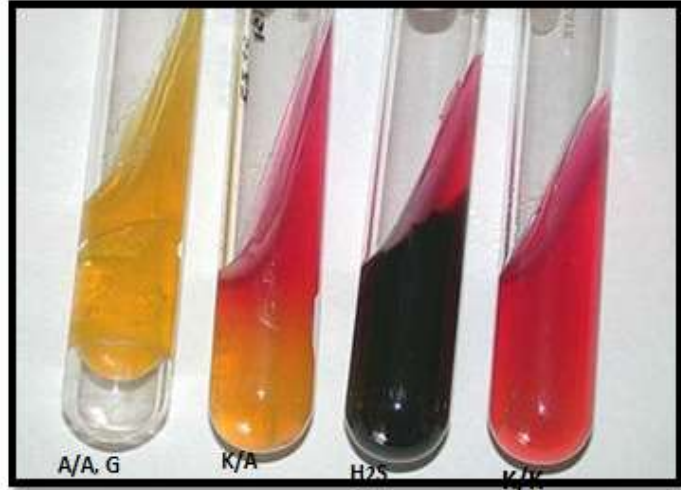


Figura 3c. SIM (indol)

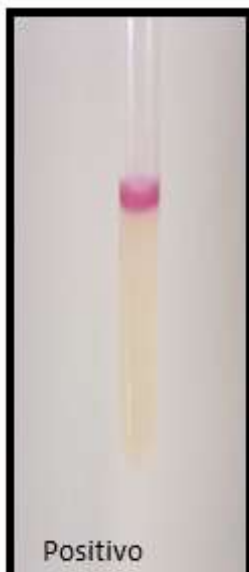


Figura 3d. Citrato



Figura 3e. Motilidad



CLAVE	INTERPRETACIÓN		
	Color, aspecto	Fondo	Superficie en pico de flauta
A	Amarillo	fermentación de glucosa y formación de ácido	fermentación de lactosa y/o sacarosa con producción de ácido
G	Aparición de burbujas	formación de gas a partir de glucosa	
K	Rojo intenso	no fermentación de glucosa y formación de alcali	no fermentación de lactosa ni sacarosa. formación de alcali.
H₂S	Ennegresimiento	Formación de SH ₂	
	Sin ennegresimiento	No formación de SH ₂	

Anexo 17

Fenilalanina desaminasa

Esta prueba determina la capacidad de un organismo para desaminar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico por su actividad enzimática de fenilalanina desaminasa, con la consiguiente acidez resultante. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies del género *Proteus* y del grupo *Providencia* por lo que se usa para separar ambos géneros de otras enterobacterias

Procedimiento

Se cultiva el microorganismo en agar fenilalanina sembrando la superficie del medio con abundante inóculo e incubando durante 12-16 horas. Seguidamente se añade 0,2ml de una solución de cloruro férrico al 10% de manera que inunde todo el crecimiento. La presencia de ácido fenilpirúvico se manifiesta por la aparición de un color característico verde oscuro o verde-azulado

Resultados

Prueba positiva: se manifiesta por la aparición de un color característico verde oscuro o verde-azulado

Prueba negativa: No se produce cambio de color.(figura 3a)

Anexo 18

Agar TSI (Triple azúcar hierro)

En estos medios se determina la capacidad de la bacteria de utilizar la lactosa, glucosa y sacarosa (en TSI), con producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico.

Lectura

La lectura se hace entre las 18 – 24 horas, sobre la base de tres características: Utilización de hidratos de carbono, producción de gas y producción de ácido sulfhídrico. (figura 3b)

- Utilización de hidratos de carbono:
 - Utilización de lactosa: Reacción ácida en el pico de flauta (color amarillo) Abreviatura: (A).
 - Utilización de glucosa: Reacción ácida en la columna del medio (color amarillo) Abreviatura: (A).

No hay utilización del carbohidrato: Se puede observar una reacción alcalina (color rojo) o que no hay cambio de color, señalamos usando abreviaturas: (K) o (N) respectivamente, se debe tomar en cuenta que cuando también produce H_2S el precipitado negro puede ocultar la acidez.

- Producción de gas de glucosa:
 - Se considera positivo: Presencia de una sola burbuja de gas, burbujas en el medio, división del medio, desplazamiento completo del medio del fondo del tubo dejando un área clara o una ligera muesca del medio en el costado del tubo. (figura 3b A/A,G)
- Producción de ácido sulfhídrico:
 - Se manifiesta por un color negro distribuido por toda la columna del medio de cultivo o sólo en la parte superior. (figura 3b H_2S)

Anexo 19

Agar SIM(Motilidad, indol, sulfuro de hidrogeno)

Este medio nos permite identificar en el medio la capacidad de movimiento de ciertas bacterias, la formación de sulfuro de hidrógeno, a demás de la prueba es útil para determinar la capacidad de un microorganismo de producir indol a partir del amino-ácido triptófano.

1.Evaluación de la motilidad

Tomamos unas colonias del cultivo y sembrar con el asa esterilizada en forma perpendicular sin tocar el fondo del medio.

Retirar el asa por el mismo sitio de entrada y esterilizamos.

Incubar a 35 – 37° C durante 24 a 48 horas.

Resultados

Positivo: Los microorganismos migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbidez. También puede manifestarse semejjando “vellosidades” a lo largo del trazo de siembra. (figura 3e)

Negativo: Se observa un crecimiento bacteriano acentuado siguiendo el trazo de siembra, y el medio circundante se mantiene claro.

2.Prueba de indol

Es útil para determinar la capacidad de un microorganismo de producir indol a partir del aminoácido triptófano.

Medios y Reactivos

Reactivo de indol de Kovacs.

Procedimiento

- En el medio SIM cultivado de 24 horas de incubación.
- Agregar 3 a 5 gotas de reactivo de Kovacs.

- Mover suavemente el tubo y realizar la lectura.
- Evaluar el cultivo a las 24 horas si la lectura es negativa, deberá incubarse otras 24 horas el cultivo restante y repetirse la prueba.

Resultados

Prueba positiva: Formación de un anillo rojo en la superficie del medio (la capa alcohólica)

Prueba negativa: No se produce color en la capa alcohólica, y toma el color del reactivo empleado (figura 3c)

3.Produccion de sulfuro de hidrógeno

Hay aparición de un precipitado de color negro en el fondo del tubo. Algunas bacterias respiradoras anoxibiónticas son capaces de emplear el tiosulfato sódico como aceptor final de electrones de la transportadora. Como consecuencia, este compuesto se reduce a ácido sulfhídrico, que, a su vez, reacciona con el hierro Fe^{2+} presente en el medio formando un precipitado negro de sulfuro de hierro

Se registra la lectura por medio de cruces (+).

Anexo 20

Agar Citrato

Este medio indica la capacidad de las bacterias de metabolizar el citrato. Contiene citrato como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno y azul de bromotimol como indicador de pH. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar el citrato (indica presencia de la enzima citrato permeasa) podrán multiplicarse en este medio y, al hacerlo, utilizarán los fosfatos presentes liberando iones amonio, estos iones amonio que evolucionan a amoníaco, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una fuerte basificación del medio que se manifestará por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul.

Procedimiento

Con el asa de platino esterilizada al rojo vivo sobre el mechero, tomar unas colonias del cultivo primario.

Sembrar en el medio de citrato, arrastrando el asa solo en la superficie el pico de flauta del medio.

Incubar a 35 – 37° C 24 horas - 48 horas. En algunos casos es necesario una incubación hasta por 4 días.

Ver el viraje de color.

Resultados

Prueba positiva: Crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta, o presencia de colonias en ausencia del color azul.

Prueba negativa: No se observa crecimiento ni cambio de color. (figura 3d)

Anexo 22

Catalasa

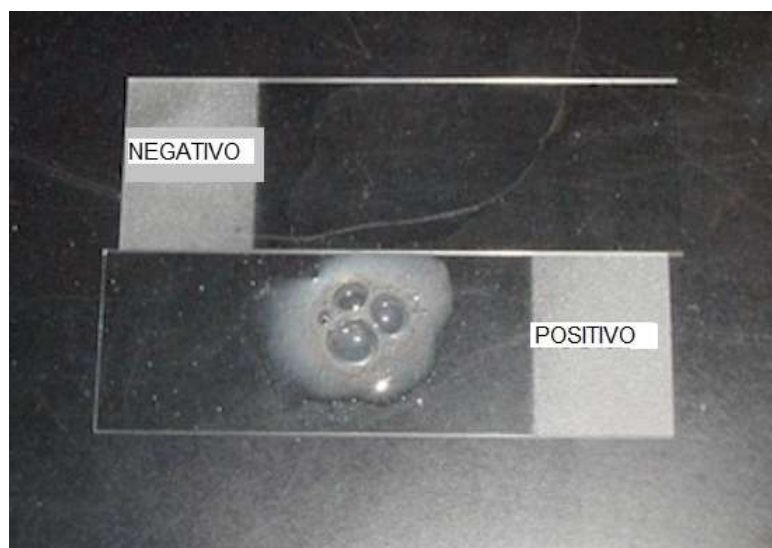
Separa el Género. *Staphylococcus* (catalasa +) de los Géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (catalasa -).

La enzima catalasa descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno bajo la fórmula $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$. De esta manera las bacterias se protegen del efecto tóxico del H_2O_2 , que es un producto final del metabolismo aerobio de los azúcares.

Procedimiento: Se coloca una gota de H_2O_2 al 3% sobre un portaobjetos y luego se transfiere una porción decolonia sobre el H_2O_2 realizándose una emulsión. En lo posible debe tomarse la colonia a partir de un medio sin sangre ya que los eritrocitos tienen actividad de catalasa y pueden falsear los resultados. Esta prueba también puede realizarse en un aislamiento en tubo, simplemente colocando unas gotas de H_2O_2 dentro del mismo.

Interpretación de resultados: El desprendimiento de burbujas se considera una prueba positiva.

Figura 4. Prueba de la catalasa positiva en porta



Anexo 23

Coagulasa

Permite separar *S. aureus*, que posee coagulasa, de las otras especies de estafilococos que genéricamente se denominan coagulasa negativos.

S. aureus posee dos tipos de coagulasa:

- a. Una endocoagulasa o coagulasa ligada o "clumping factor" que está unida a la pared celular. Esta actúa directamente sobre el fibrinógeno provocando la formación de coágulos o grumos cuando se mezcla una suspensión bacteriana con plasma citratado (test en lámina).
- b. Una exocoagulasa o coagulasa libre que actúa mediante la activación de un factor (CRF), formándose un complejo coagulasa-CRF, el cual reacciona con el fibrinógeno produciéndose un coágulo de fibrina (test en tubo).

Test en lámina

Procedimiento: Se emulsionan una o más colonias en una gota de suero fisiológico hasta formar una suspensión lechosa sobre un portaobjetos. Luego se agrega una gota de plasma citratado de conejo y se mezclan.

Interpretación de resultados: Debe realizarse dentro de los primeros diez segundos. Un test positivo se evidencia por la formación de grumos. Los test negativos deben ser confirmados por test en tubo.

Test en tubo

Procedimiento: Se emulsionan varias colonias en un tubo con 0,5ml de plasma citratado de conejo. Se incuba a 35°C y se chequea la formación del coágulo a las 4 horas. Si es negativo se reincuba toda la noche y se procede a su lectura a las 18 horas. La lectura a las 4 horas, es fundamental porque en alguna oportunidad puede suceder que las fibrinolisinias de *S. aureus* lisen el coágulo luego de 18 horas de incubación y de esta manera se produzcan un test falso negativo.

Interpretación de resultados: Se observa la formación de un coágulo total o parcial si el test es positivo.

Figura 5. Prueba de la coagulasa en tubo



Anexo 24

Resistencia a la novobiocina

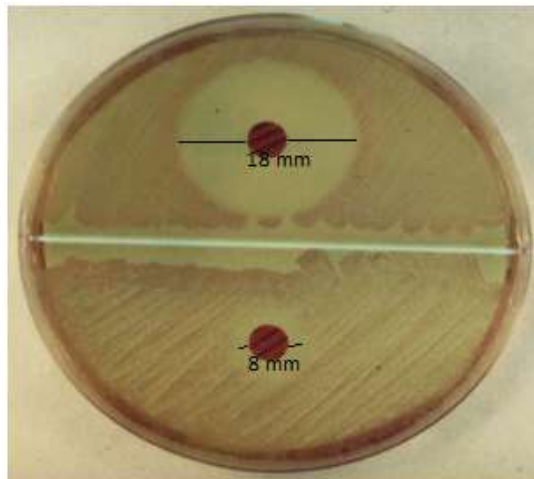
Objetivo: Separa *S. saprophyticus* (resistente a la novobiocina) de los demás estafilococos coagulasa negativos.

Varias especies del Género *Staphylococcus* son resistentes a la novobiocina (disco de 5 µg).

Procedimiento: Se siembra una placa de agar sangre con un hisopo embebido en una suspensión de la cepa a estudiar. Luego se aplica el disco de novobiocina y se incuba a 35°-37°C por 18 horas.

Interpretación de resultados: Un halo de inhibición de crecimiento menor o igual a 16mm corresponde a *S. saprophyticus*. Un halo de inhibición mayor de 16mm corresponde a otros estafilococos coagulasa negativos (*S. epidermidis*).

Figura 6. Resistencia a la novobiocina



Anexo 25

Resistencia a la optoquina

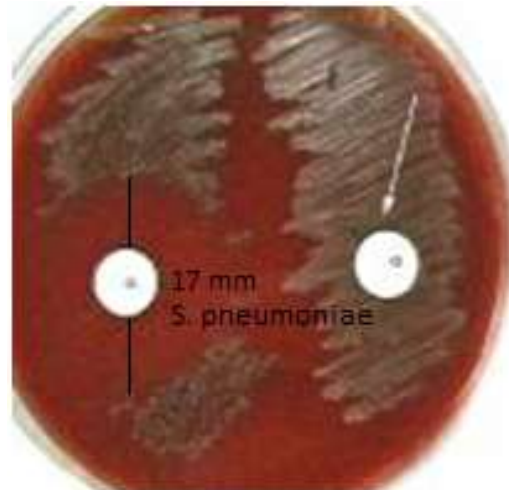
Diferencia *S. pneumoniae* de otros estreptococos α -hemolíticos.

Fundamento: Se basa en la sensibilidad de *S. pneumoniae* a una concentración menor o igual a $5\mu\text{g/ml}$ de hidroxocuprina (optoquina).

Procedimiento: Estriar un cuadrante de una placa de agar sangre en varias direcciones con una suspensión Mc Farland 0,5. Colocar luego un disco de optoquina en el centro del área estriada. Incubar 18-24 horas a 37°C .

Interpretación de resultados: Halos de inhibición iguales o mayor de 14mm son característicos de *S. pneumoniae*.

Figura 7. Resistencia a la optoquina



Anexo 26

Solubilidad en bilis

La prueba de solubilidad en bilis es otra prueba para la identificación de *S. pneumoniae*. Puede realizarse en una suspensión del microorganismo en caldo o en solución fisiológica, o directamente en una placa

Fundamento: Se basa en la capacidad del *S. pneumoniae* de activar su capacidad y enzimas autolíticas en presencia de una concentración determinada de bilis.

Procedimiento: Se requieren dos tubos para la prueba de solubilidad en bilis por cada cepa sospechosa de *S. pneumoniae*.

Tomar con una asa una cepa sospechosa de un crecimiento fresco en una placa de agar sangre y prepare una suspensión de células bacterianas en 0,5 ml de salina estéril. La suspensión de células bacterianas deberá ser turbia, similar a una turbidez estándar de 0,5 ó 1,0 en la escala de McFarland.

Divida la suspensión en dos cantidades iguales (0,25 ml por tubo). Añada 0,25 ml de salina a uno de los tubos (control) y 0,25 ml de desoxicolato de sodio al 2% (sales biliares) al otro (prueba).

Agite los tubos suavemente e incúbelos a 35°C– 37°C durante 2 horas.

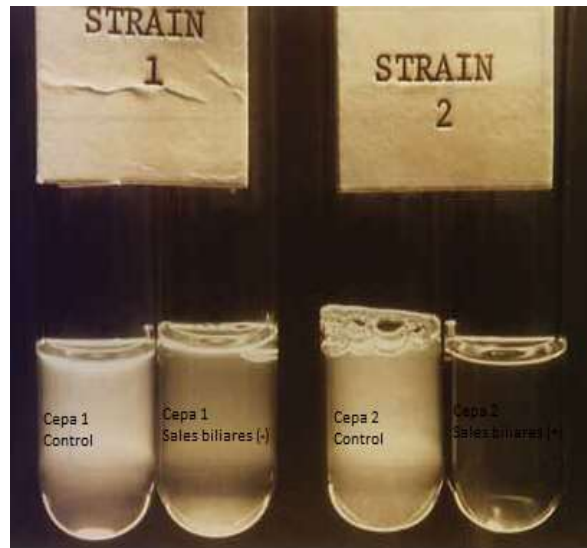
Examine los tubos periódicamente para detectar lisis de las células en el tubo que contiene sales biliares.

Resultados:

Positivo. Si el tubo se aclara o pierde turbidez. “solubles en bilis.”

Negativo. La turbidez del tubo permanece igual. “insoluble en bilis”

Figura 8. Solubilidad en bilis



Anexo 27

CAMP (factor adenina monofosfato ciclico)

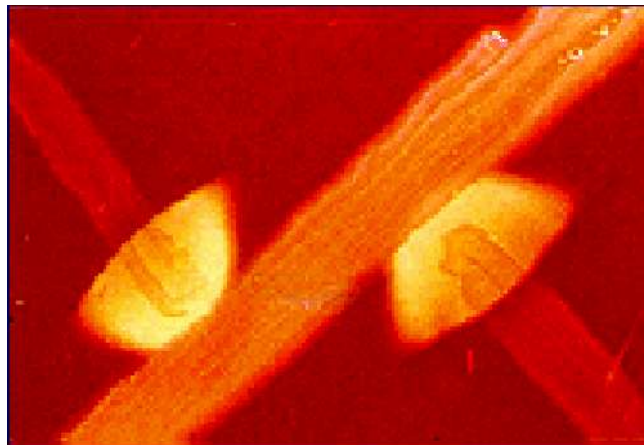
Separa *S. agalactiae* de los demás estreptococos β -hemolíticos.

Se basa en que los estreptococos del grupo B producen un factor llamado CAMP (factor monofosfato de adenina cíclica) que aumenta la zona de hemólisis producida por un estafilococo productor de β -lisina.

Procedimiento: Se realiza estriando un cultivo de estreptococo β -hemolítico en forma perpendicular a una estría de un estafilococo productor de β -lisina en agar sangre. Se incuba 18-24 horas a 37°C.

Interpretación de los resultados: La prueba positiva se evidencia por la presencia de una zona de potenciación de la hemólisis en forma de puntas de flecha en el lugar donde se contactan las dos estrías.

Figura 9. CAMP



Anexo 28

Resistencia al SXT (trimetoprim-sulfametoxazol)

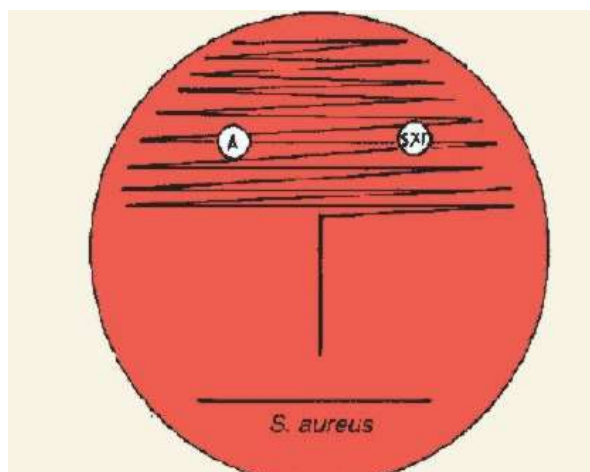
Esta prueba es útil para diferenciar los streptococos β -hemolíticos del grupo A y B que son resistentes, de los del grupo C, F y G que son sensibles.

Fundamento: Se basa en la sensibilidad de los streptococos del grupo C, F y G, al trimetoprim sulfametoxazol.

Procedimiento: Estriar un cuadrante de una placa de agar sangre en varias direcciones con una suspensión Mc Farland 0,5. Colocar luego un disco de SXT en el centro del área estriada. Incubar 18-24 horas a 37°C.

Interpretación de resultados: La presencia de halos de inhibición son característicos de los grupo C, F y G .

Figura 10. Resistencia al SXT, Bacitracina y CAMP



Anexo 29

Resistencia a la bacitracina

Separa el *Streptococcus pyogenes* de los demás estreptococos beta hemolíticos.

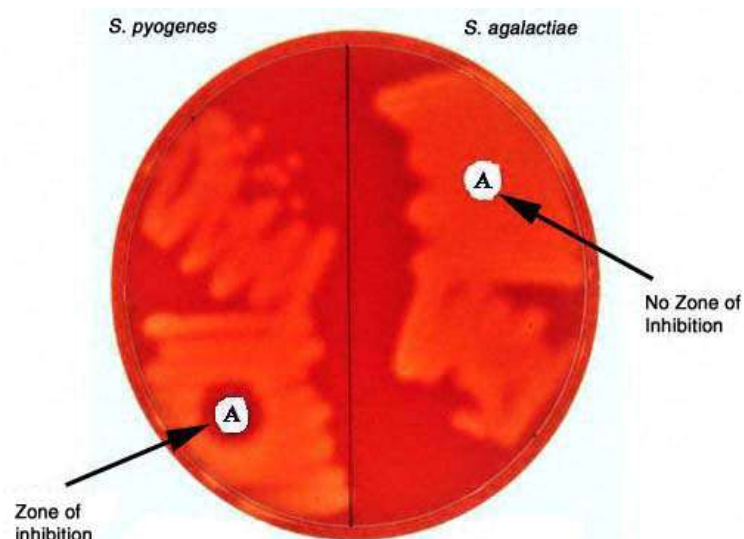
Fundamento: *Streptococcus pyogenes* es sensible a bajas concentraciones de Bacitracina (discos conteniendo 0,04U). También existe un 5% de cepas de *S. agalactiae* que son sensibles a la bacitracina.

Procedimiento: Se realiza sembrando un gran inóculo, tomado con asa bacteriológica de un cultivo puro, que se estra sobre una placa de agar sangre en varias direcciones intentando obtener un cultivo confluyente.

Luego se coloca el disco de bacitracina y se incuba 18- 24 horas a 37°C.

Interpretación de resultados: La aparición de cualquier diámetro de halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera prueba positiva.

Figura 11. Resistencia a la bacitracina



Anexo 30

Hidrólisis del PYR

Separa *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus* de los demás estreptococos.

S. pyogenes y *Enterococcus* poseen la capacidad de hidrolizar el substrato PYR (pirridonil β -naftilamida) debido a que poseen la enzima l-pirolglutamil aminopeptidasa. En general siempre se revelan por un cambio de color. Este test es más específico y menos laborioso que realizar el test de sensibilidad a la bacitracina y la bilis esculina y caldo salado

Procedimiento: Con un asa bacteriológica esteril, tomar dos o tres colonias morfológicamente similares y emulsificarlas en un pequeño volumen de caldo de PYR.

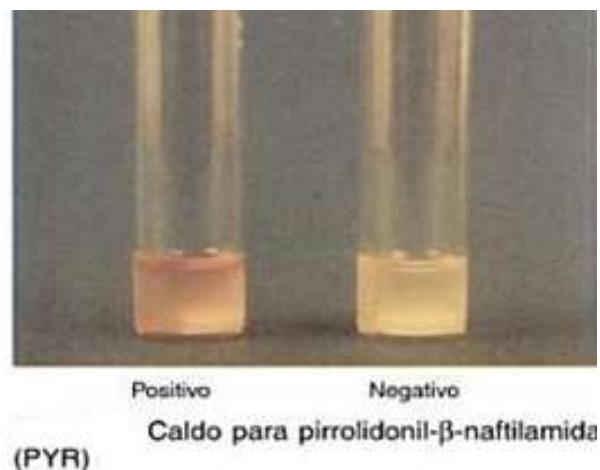
Incubar el tubo 35-37°C durante 4 horas

Agregar una gota de reactivo PYR y observar el cambio de color, la reacción debe leerse y registrarse un minuto despues del agregado del reactivo.

Prueba positiva: Desarrollo de un color rojo cereza oscuro luego de un minuto del agregado del reactivo.

Prueba negativa: Color amarillo o naranja.

Figura 12. Hidrólisis del PYR



Anexo 31

Bilis esculina

Esta prueba es útil para separar los estreptococos del grupo D y *Enterococcus* de los demás grupos de estreptococos.

Fundamento: Se basa en la capacidad de los estreptococos del grupo D y *Enterococcus* para crecer en un medio de cultivo que contiene 40% de bilis y de hidrolizar la esculina aesculetina; ésta se combina con el citrato ferroso que posee el medio, dando un complejo decolor negro. La concentración de bilis es fundamental, ya que existen estreptococos del grupo viridans que son capaces de crecer a concentraciones menores de bilis.

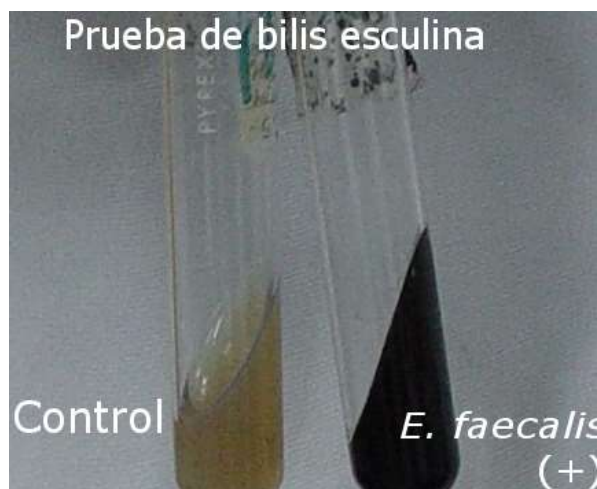
Procedimiento.

Se estría el organismo en estudio en placas o tubos en pico de flauta del medio bilis-esculina, y se incuba a 37°C durante 24 horas.

Interpretación

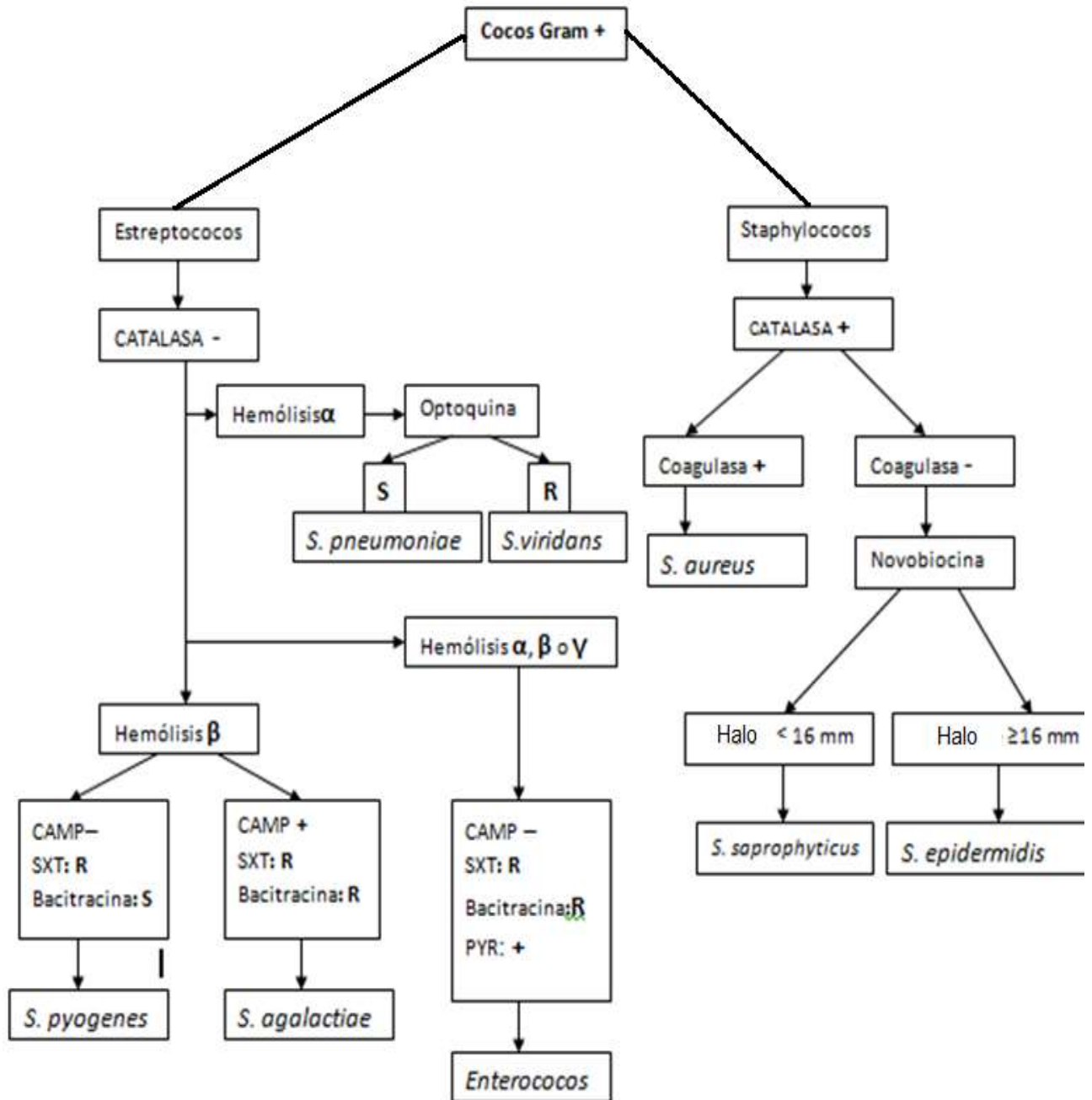
La esculina difunde hacia el medio de agar por ser hidrosoluble. La reacción es positiva si se observa un ennegrecimiento difuso del tubo o un halo marrón oscuro o negro alrededor de las colonias en placa.

Figura 13. Bilis esculina.



Anexo 32

Pruebas bioquímicas para Gram positivas



R; resistente, S; sensible, -; reacción negativa, +; reacción positiva

Anexo 33

Condiciones a tener en cuenta en la fase pos-analítica

Los resultados deben ser transcritos en forma legible y deben señalarse valores de referencia cuando así lo ameriten.

Los resultados deben ser entregados al paciente o al médico que los ha solicitado.

Antes de ser entregados los resultados estos deben ser confirmados.

Los registros de los resultados para fines diagnósticos deberán guardarse y archivarse como mínimo 5 años.

Los registros de resultados con fines de investigación deben guardarse y archivarse como mínimo 20 años.

Eliminación de desechos y muestras

Los medios de cultivo utilizados deben ser autoclavados antes de ser descartados como material contaminado.

El material utilizado para manipular las muestras debe ser colocado en recipientes herméticos con solución de hipoclorito al 9% o glutaraldehído al 2%.

Las muestras que no serán utilizadas más, se descartarán de la misma forma.

Los mesones y áreas de trabajo deben ser limpiadas con soluciones desinfectantes o soluciones cloradas.

Contról de calidad

El propósito de llevar a cabo el control de calidad en el laboratorio de microbiología es asegurar al médico y al paciente un diagnóstico confiable y oportuno mediante el monitoreo de la exactitud, precisión, calidad de los reactivos y pruebas realizadas, así como el desempeño laboral del personal de laboratorio.

Los colorantes y reactivos usados para la identificación bacteriana deben probarse inmediatamente después de la preparación y periódicamente para

evaluar las características de tinción esperadas y la correcta reactividad de los medios apropiados con cepas referenciales o de reactividad conocida.

Debe llevarse un registro del control de calidad de los medios de cultivo, colorantes y reactivos en el que se incluya: fecha, número de control o lote, control positivo y negativo utilizado, resultados de la prueba y nombre de la persona que realizó la prueba. Los registros deben estar a disposición de todo el personal del laboratorio.

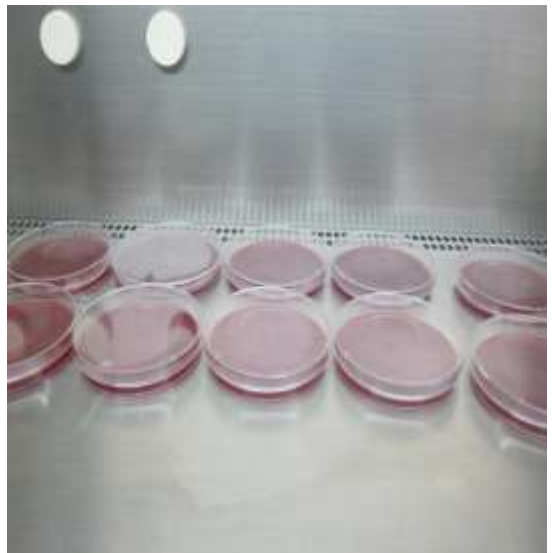
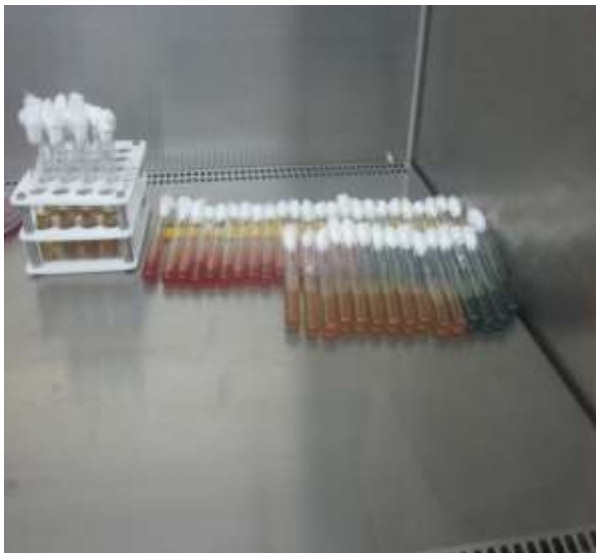
Es necesario llevar registros de temperatura y de mantenimiento de los equipos para documentar el correcto funcionamiento de los mismos y demostrar que los hallazgos de laboratorio constituyeron realmente determinaciones válidas.

Se verifica el cumplimiento de la frecuencia programada para controlar el estado de calibración de los equipos y los medios de medición.

En caso de identificarse disconformidades en la aplicación de las especificaciones, se informa al personal responsable del laboratorio, quien decide la adopción de medidas correctivas necesarias y la identificación de las causas.

Anexo 34

Preparación de medios de cultivo



Anexo 35

Siembra en medios de cultivo



Anexo 36

Crecimiento en medios de cultivo



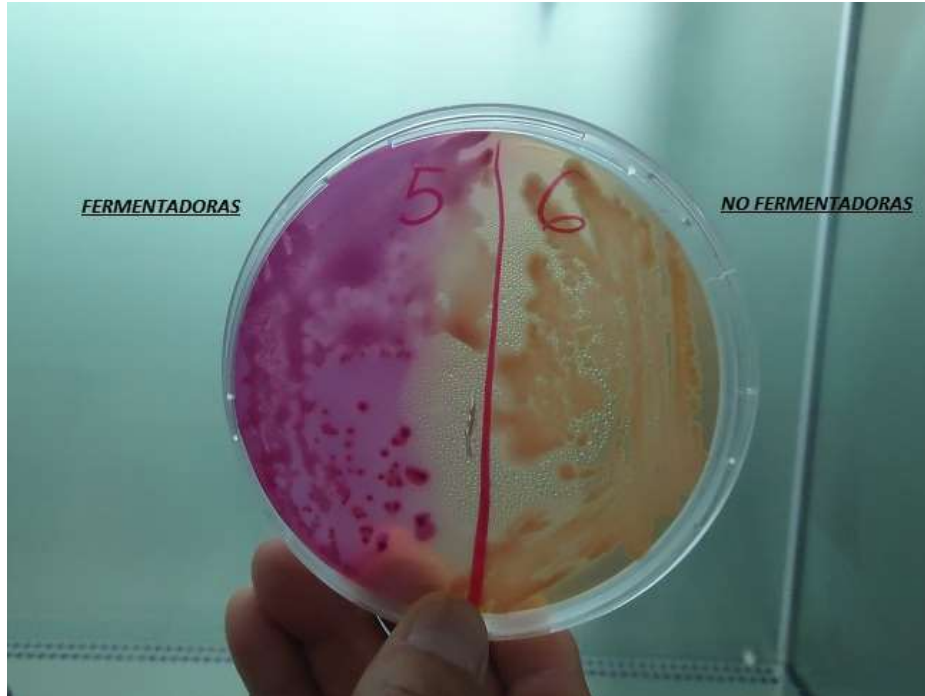
Anexo 37

Tinción de placas con Gram



Anexo 38

Bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa



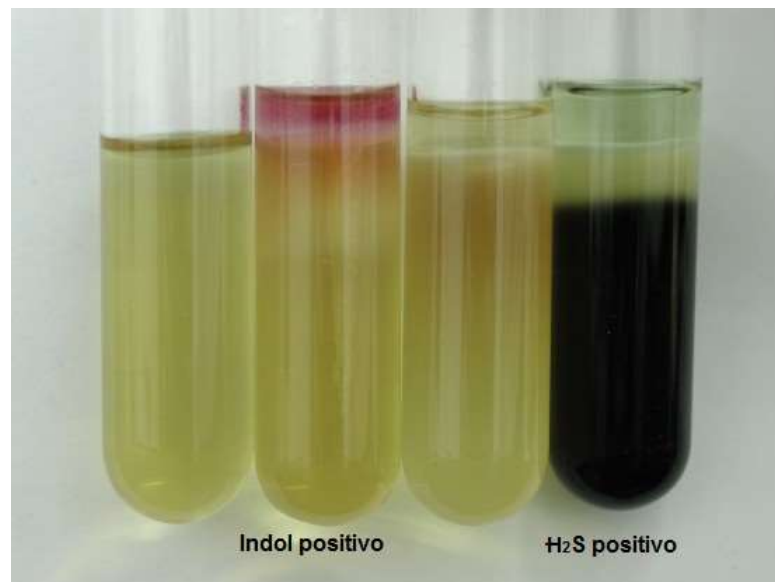
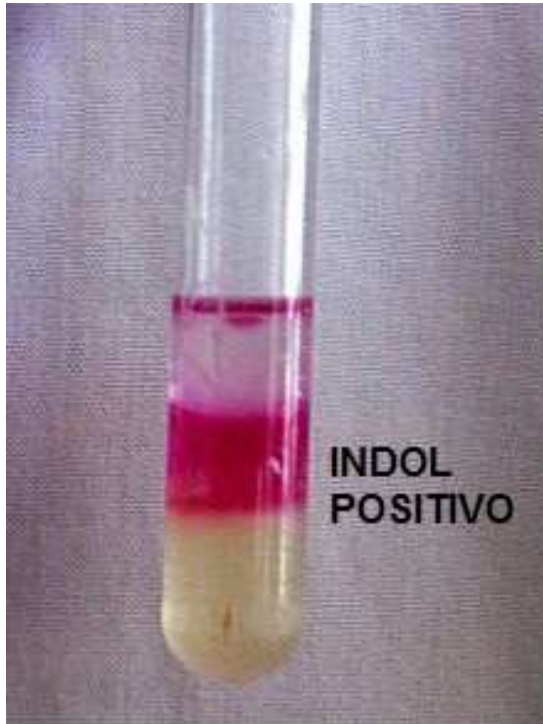
Anexo 39

Resultados en medio TSI



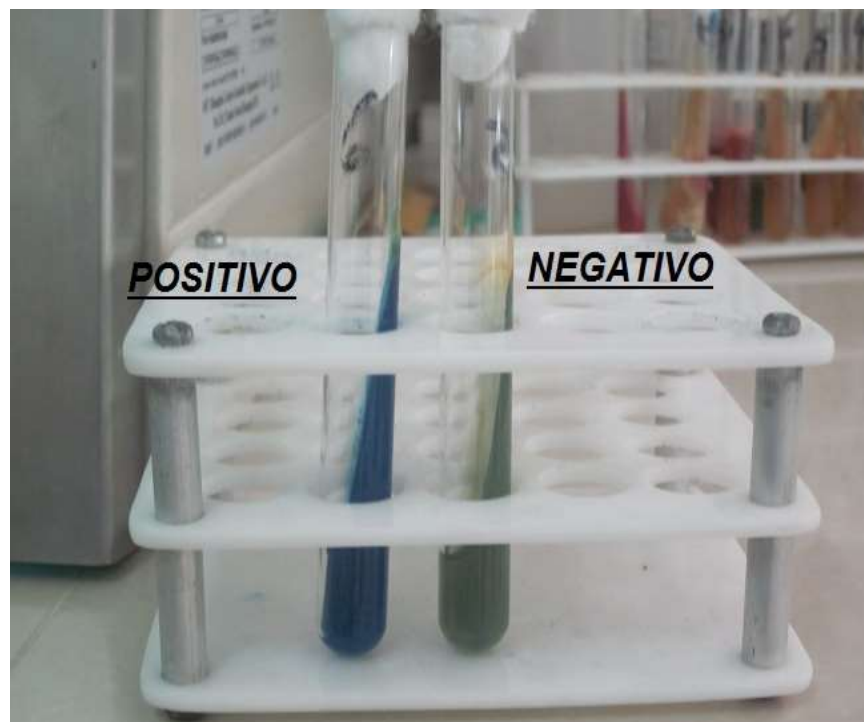
Anexo 40

Resultados en medio SIM



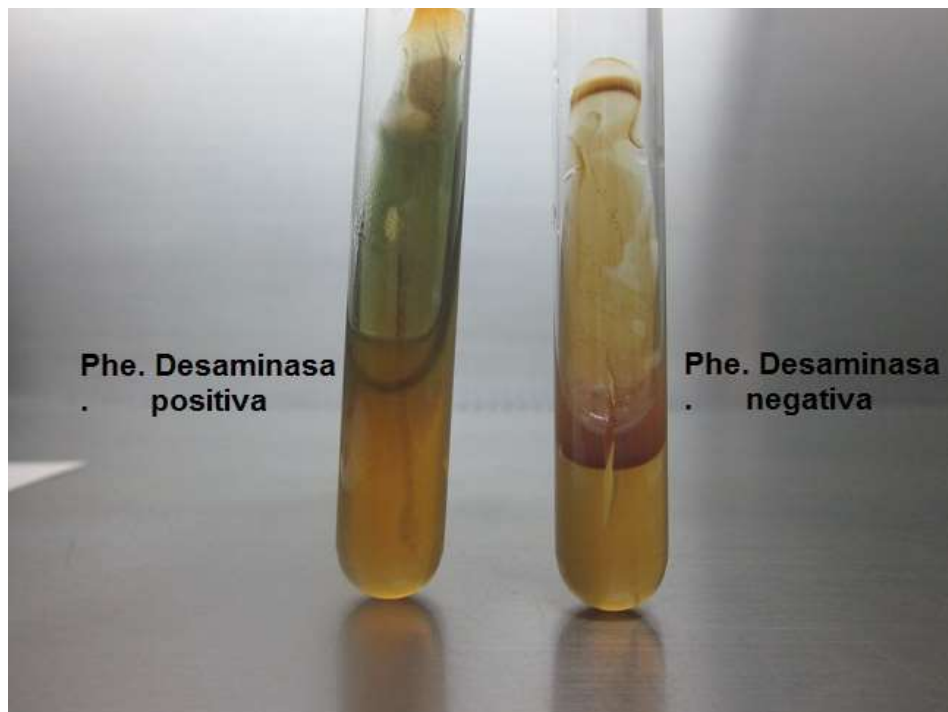
Anexo 41

Resultados en medio Citrato de Simmons



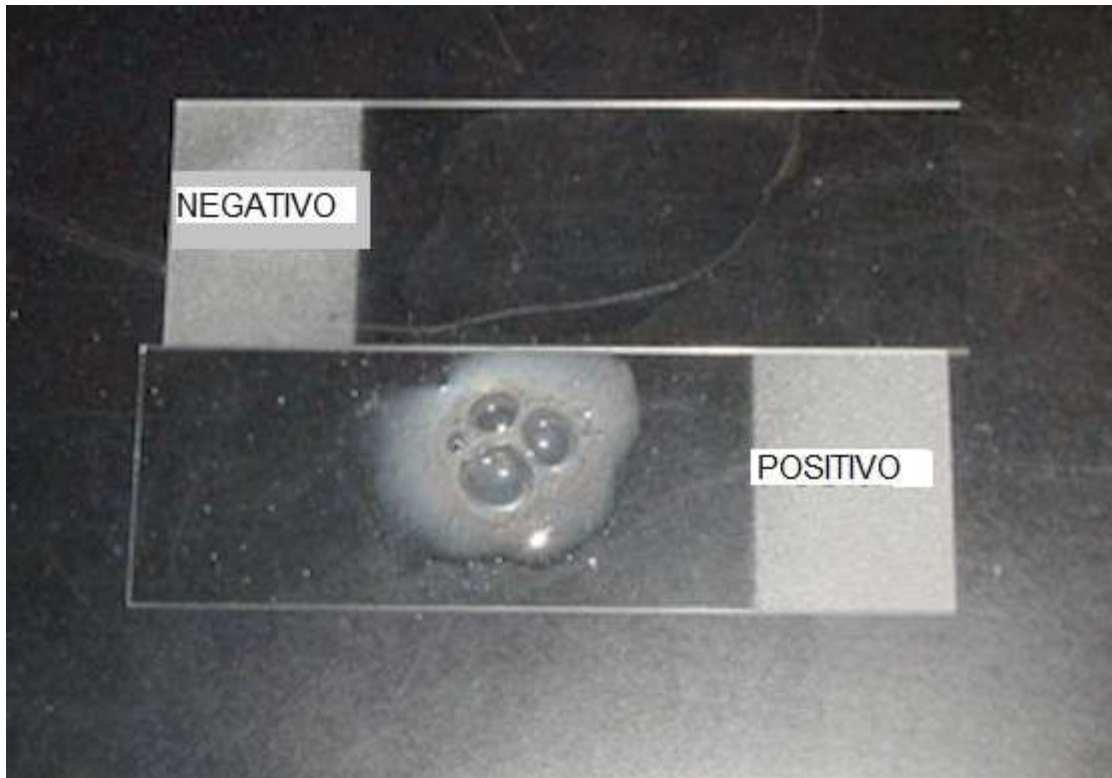
Anexo 42

Resultados en medio Fenilalanina desaminasa



Anexo 43

Prueba de catalasa



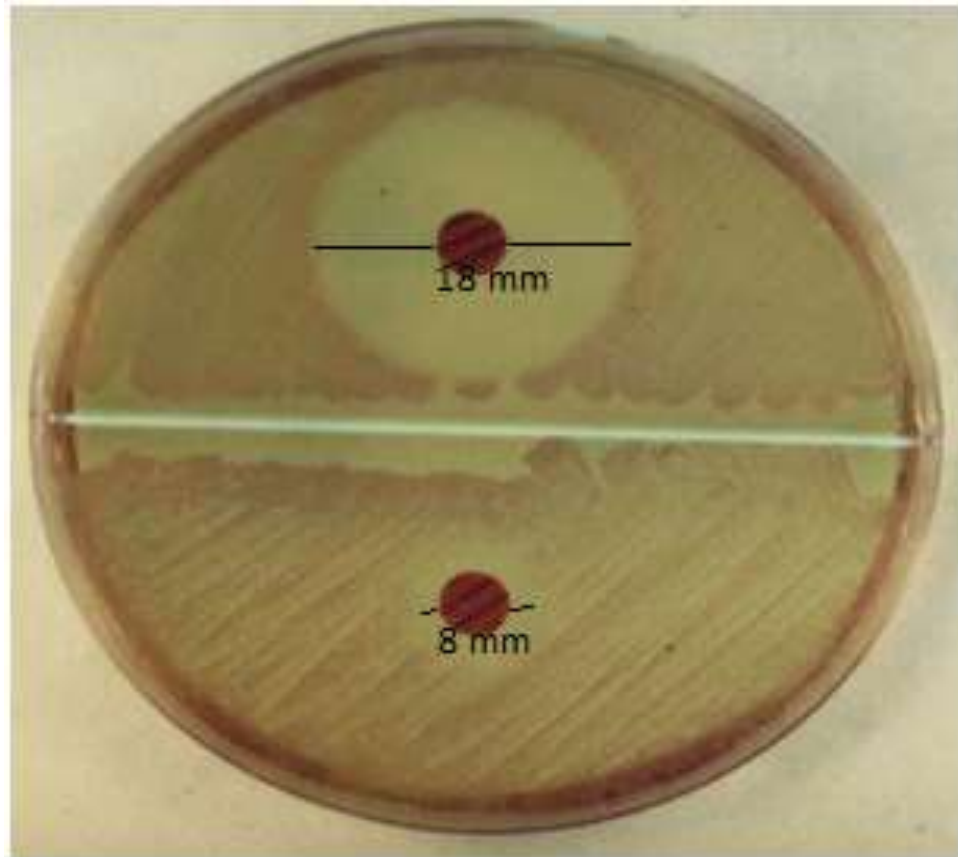
Anexo 44

Prueba de coagulasa



Anexo 45

Prueba de novobiosina



Anexo 46

Personal del CDM-ASH



Anexo 47

Difusión de resultados

