

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Patrones de resistencia antimicrobiana de cepas de
Escherichia coli uropatógeno - Hospital Regional de
Ayacucho, 2012.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO
CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE
MICROBIOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

Bach. SILVA MEJÍA, OMHAR

AYACUCHO - PERÚ

2013

Acta de Sustentación de Tesis

R.D N° 055-2013-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cinco y cinco de la tarde se reunieron en el Auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas del día viernes treinta y uno de mayo de 2013, los miembros del Jurado Calificador integrado por los siguientes profesionales docentes de la Facultad de CC.BB de la UNSCH: Dr Segundo Tomás Castro Carranza (Presidente), Mg. Víctor L. Cárdenas López (Miembro), Mg. Aurelio Carrasco Venegas (Miembro – Asesor) y Mg. José Alarcón Guerrero (Miembro) para recepcionar la tesis presentada por el Bach. Omhar Silva Mejía (mediante solicitud N° 25 de fecha 11/04/2013) en base a la Resolución Decanal N° 055-2013, la misma que lleva por título “Patrones de Resistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* uropatógeno – Hospital Regional de Ayacucho, 2012”, el mencionado Bachiller pretende optar el Título de Biólogo con mención en la especialidad de Microbiología.

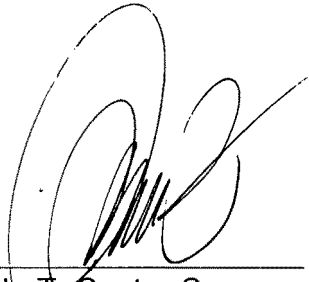
Como acto inicial el Presidente indico al sustentante que tiene un tiempo máximo de exposición de 45 minutos según reglamento de la cual hizo uso de 30 minutos. A continuación el Presidente indico pasar a la siguiente fase que es las preguntas, aclaraciones y/o recomendaciones que tuvieran los miembros del Jurado Evaluador empezando con el Prof. José Alarcón, Víctor Cárdenas y Aurelio Carrasco.

Concluida esta etapa el Presidente indico e invito al sustentante y público en general a abandonar temporalmente el Auditorium para que el jurado delibere las calificaciones pertinentes en privado teniéndose los siguientes resultados.

Miembro Jurado	Exposición	Rpta. a Preguntas	Promedio
Mg. Víctor L. Cárdenas López	18	18	18
Mg. Aurelio Carrasco Venegas	19	18	19
Mg. José Alarcón Guerrero	18	18	18
		Promedio	18

De la deliberación y evaluación por los miembros del jurado calificador, el sustentante obtuvo la calificación promedio de 18 (Dieciocho) de la cual dan Fe estampando su firma pie de la presente.

Siendo las siete y cinco de la noche concluyó el acto de sustentación de tesis.



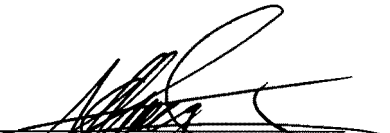
Dr. Segundo T. Castro Carranza
Presidente



Mg. Victor L. Cárdenas López
Miembro



Mg. Aurelio Carrasco Venegas
Miembro – Asesor



Mg. José Alarcón Guerrero
Miembro - Secretario

DEDICATORIA

A mis padres.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga *Alma Mater* por haberme formado profesionalmente en sus aulas.

A la Escuela de Formación Profesional de Biología y su plana docente por los conocimientos que me impartieron en el proceso de mi formación profesional.

Al Mg. Aurelio CARRASCO VENEGAS por asesorarme para hacer realidad esta tesis.

Al Dr. Luis Eusebio HUAMANI BERROCAL Jefe del Servicio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho por permitirme desarrollar la tesis en el servicio que tan dignamente dirige.

A la Blga. Lucia CCORAHUA TACSI Jefa del Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho por su asesoramiento y supervisión durante el proceso de ejecución de la tesis.

INDICE GENERAL

	Página.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE GENERAL	iii
INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS	v
INDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Bases teóricas	6
2.2.1. Mecanismo de acción de los antibióticos	6
2.2.2. Resistencia a los antimicrobianos	6
2.2.3. Clasificación sistemática de <i>Escherichia coli</i>	7
2.2.4. Mecanismos de resistencia de <i>Escherichia coli</i>	9
2.2.5. Tipos de resistencia	10
2.2.6. Resistencia a los antibióticos que actúan sobre la pared bacteriana	11
2.2.7. Resistencia a betalactámicos	11
2.2.8. Clasificación de las betalactamasas	13
2.2.9. Infección al tracto urinario (ITU)	13
2.10. Principales tipos de infección al tracto urinario (ITU)	14
2.11. Diagnóstico	16
2.12. Procesamiento del antibiograma	17
2.13. Discos de sensibilidad antibiótica a incluir en el antibiograma	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación de zona de estudio	19
3.2. Población	19
3.3. Muestra	19
3.4. Metodología	20
3.5. Tipo de investigación	34
IV. RESULTADOS	35

V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	46
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
IX. ANEXOS	51

INDICE DE TABLAS

	Página.
Tabla 1. Características de las colonias de <i>Escherichia coli</i> cultivados según medios.	9
Tabla 2. Frecuencia de microorganismos aislados en urocultivos positivos de pacientes.	36
Tabla 3. Patrones de sensibilidad y resistencia a quinolonas de cepas de <i>Escherichia coli</i> .	37
Tabla 4. Patrones de sensibilidad y resistencia a carbapenems de cepas de <i>Escherichia coli</i> .	38
Tabla 5. Patrones de sensibilidad y resistencia a los aminoglucósidos de cepas de <i>Escherichia coli</i> .	39
Tabla 6. Patrones de sensibilidad y resistencia a otros antibióticos de cepas de <i>Escherichia coli</i> .	40
Tabla 7. Patrones de sensibilidad y resistencia a cefalosporinas de cepas de <i>Escherichia coli</i> .	41
Tabla 8. Cepas positivas y negativas de <i>Escherichia coli</i> según el Screening de BLEE y métodos de confirmación.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar	29
--	----

INDICE DE ANEXOS

	Página.
Anexo 1. Diámetros de halos de inhibición según antibióticos.	52
Anexo 2. Diámetros de halos de inhibición según antibiótico.	53
Anexo 3. Límites aceptables (mm) de diámetros de halos de inhibición para control de pruebas de disco difusión.	54
Anexo 4. Gráfica del control de temperatura.	55
Anexo 5. Resultados obtenidos de los antibiogramas.	56
Anexo 6. Resultados obtenidos de los antibiogramas.	57
Anexo 7. Resultados obtenidos de los antibiogramas.	58
Anexo 8. Resultados obtenidos de los antibiogramas.	59
Anexo 9. Resultados obtenidos de los antibiogramas.	60
Anexo 10. Materiales usados para el urocultivo	61
Anexo 11. Proceso de siembra del urocultivo.	62
Anexo 12. Prueba de antibiótico	63
Anexo 13. Crecimiento microbiano	64
Anexo 14. Identificación bioquímica del microorganismo aislado.	65
Anexo 15. Resultado del antibiograma y confirmación de β - lactamasas de espectro extendido.	66
Anexo 16. Conservación de medios de cultivo	67
Anexo 17. Control de esterilidad interno y externo	68
Anexo 18. Tubos inclinados con medio TSI y LIA.	69
Anexo 19. Frascos codificados de cepas aisladas.	70
Anexo 20. Matriz de consistencia	71

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana en la ciudad de Ayacucho es un problema de salud pública frecuente, por ello se realizó una investigación descriptiva de los patrones de resistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* uropatógeno en el Hospital Regional de Ayacucho 2012, del 21 agosto al 21 de diciembre del 2012, para evaluar los patrones de resistencia *in vitro* a varios antibióticos y la presencia del Beta Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) y su confirmación. Se analizaron los urocultivos de pacientes que acudieron al Área de Microbiología con la orden correspondiente, realizando el urocultivo y el antibiograma por el método de disco de difusión, además el screening para cepas productoras de betalactamasas y su confirmación por el método de Hogde e Inhibidores. Se analizaron 390 muestras de las cuales 61 fueron positivas con crecimiento mayor a 100 000 UFC/ml, siendo el microorganismo más frecuente la *Escherichia coli* con un 75 % del total de casos, teniendo más incidencia en las mujeres con un 64 %. Una resistencia de *Escherichia coli* a quinolonas de 43,5 % al ciprofloxacino, 78 % al ácido nalidixico y un 57 % al norfloxacino. Una resistencia a carbapenems del 0 %, una resistencia a los aminoglucósidos del 4 % para la gentamicina, el 2 % para la Amikacina. Además el 48 % de las cepas de *Escherichia coli* resultó ser (BLEE) positivas las cuales fueron confirmadas por los métodos de Hogde e Inhibidores.

Se concluye que el 75 % de las infecciones urinarias son producidas por *Escherichia coli*, 64 % en mujeres y 11 % en varones, solo el 25 % es causado por otros microorganismos. Además Los patrones de resistencia de las cepas aisladas de *Escherichia coli* presentaron una resistencia del 78 % al ácido nalidixico (Quinolona de primera generación), un 43,5 % y 57 % para el ciprofloxacino y norfloxacino respectivamente (fluroquinolonas), una resistencia del 0 % para en imipenem y meropenem (carbapenems), 4 % de resistencia a la gentamicina y un 2 % para la amikacina (aminoglucosidos) y otros antibióticos como el sulfametoxazol mas trimetropin con un 65 % de resistencia y la nitrofurantoina con 9 %. El 48 % de las cepas aisladas de *Escherichia coli* resultaron ser BLEE positivas de las cuales solo el 46 % de estas cepas fueron confirmadas por los métodos de Hogde e inhibidores.

Palabras Clave: Resistencia antimicrobiana, *Escherichia coli*, BLEE, Uropatógeno, screening.

I.INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las formas más comunes de infección bacteriana en el ser humano. Ocurre en todos los grupos etéreos. Entre los 20 a 50 años, la ITU es 50 veces más frecuente en el sexo femenino. La incidencia aumenta tanto en hombres como en mujeres por encima de los 50 años. (1)

Las bacterias Gram negativas causan la mayoría de ITU. Algunas se adquieren por vía hematógena, pero el 95% de las infecciones se producen por el ascenso de bacterias desde el introito vaginal y la uretra colonizada hacia la vejiga y, en los casos de pielonefritis aguda no complicada, por vía uretral hacia el riñón. (1)

La alta incidencia de las enfermedades infecciosas, la importancia de las enterobacterias como agentes causales más frecuentes y el surgimiento de cepas que muestran resistencia a varios grupos de antibióticos son factores que concurren en uno de los mayores problemas para la salud pública. El intercambio de material genético entre las poblaciones bacterianas permite el intercambio de características fenotípicas que originan la aparición de cepas bacterianas nuevas, lo que puede resultar ventajoso especialmente si el ADN adquirido codifica la resistencia a los antibióticos. Con respecto a estos últimos, el mecanismo más importante de resistencia es la inactivación por β -lactamasas,

que son enzimas que hidrolizan irreversiblemente el enlace del núcleo β -lactámico de los antibióticos β -lactámicos, transformándolos en compuestos inactivos incapaces de ejercer su acción antibiótica. La mayoría de β -lactamasas inactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antibióticos. (2)

Por los antecedentes se planteó realizar esta investigación, cuyos objetivos fueron aislar, identificar y evaluar la resistencia, sensibilidad a diferentes tipos antibióticos en especial al grupo de las quinolonas, además identificar a las cepas BLEE positivas mediante un screening y su confirmación por dos métodos diferentes. Así poder contar con una base de datos que nos permita saber cuáles son los patrones de resistencia que presentan *Escherichia coli* uropatógeno *in vitro*.

Objetivo General:

Conocer el patrón de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógeno en el Hospital Regional de Ayacucho.

Objetivos Específicos:

- Aislar e identificar cepas de *Escherichia coli* de pacientes con infección al tracto urinario en el Hospital Regional de Ayacucho.
- Evaluar la susceptibilidad y resistencia de las cepas de *Escherichia coli* uropatógeno frente a diferentes antibióticos usados en el antibiograma.
- Realizar el tamizaje a las cepas de *Escherichia coli* para detectar a las que producen betalactamasas de espectro extendido y su confirmación por dos métodos diferentes el de Hogde e inhibidores.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A. Internacional

Herrera (3), desarrollaron el trabajo de investigación titulado "Resistencia antimicrobiana en Hospitales nor-occidentales de Nicaragua" con la finalidad de conocer la resistencia o sensibilidad antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas de pacientes que fueron atendidos en estos hospitales, en el periodo comprendido entre mayo 2003 a mayo 2006, teniendo como resultado que las cepas de *Escherichia coli* mostraron un perfil de resistencia similar en los tres hospitales, fue característico un elevado nivel de resistencia frente a Trimetoprim-sulfametoxazol, el rango de porcentajes de resistencia fue de 44 % - 73 %.

Guajardo (4), determino la resistencia del uropatógeno comunitario más frecuente, *Escherichia coli*, a diversos antimicrobianos en urocultivos de pacientes (varones y mujeres) aislaron *Escherichia coli* en orina con cuentas mayores 100 000 UFC/ml, atendidos en Monterrey, Nuevo León, México, determinaron que los hombres presentaron mayor resistencia ($p < .05$) a ampicilina (77,8 vs. 65,9 %), cefuroxima (22,2 vs. 13,3 %) y gentamicina (22,2 vs. 13,1 %). El 62,5 % (408) de los urocultivos correspondió a mujeres con edad mayor a 15 años: 58 % (237) de entre 15 a 50 años y 42 % (171) mayores de 50

años. También predominaron resistencias a ampicilina, T/S, cefazolina y ciprofloxacino teniendo la conclusión de las tasas de resistencia a T/S y ciprofloxacino altas; resaltaron la utilidad de la nitrofurantoína y sugieren la fosfomicina como nueva opción.

Sánchez (5), evaluaron la resistencia a varios antibióticos y las tendencias de la misma, en un periodo de seis años en cepas de *Escherichia coli* aisladas en muestras de orina de pacientes atendidos en atención primaria, para lo cual analizaron los urocultivos positivos para *Escherichia coli* obtenidos de muestras enviadas desde diez centros de atención primaria del Área Sanitaria de El Bierzo y Laciana (León) entre los años 2002 y 2007, encontraron la resistencia de los aislamientos urinarios de *Escherichia coli* a todos los antimicrobianos estudiados, menos para la nitrofurantoína y la resistencia frente a amoxicilina-clavulánico, inicialmente baja, fueron aumentando progresivamente hasta alcanzar el 20,6 % en 2007 llegando a la conclusión que la variación en los patrones de resistencia bacteriana de *Escherichia coli*, obliga a disponer de un conocimiento actualizado de los mismos para adaptar las pautas generales de tratamiento empírico a cada área de salud concreta.

Gómez (6) hicieron una búsqueda retrospectiva de todos los aislamientos de cultivos de orina para el año 2007 en WHONET, Fundación Santa Fe de Bogotá encontrando la resistencia promedio del *Escherichia coli* a antibióticos como trimetropim-sulfametoxazol es de 43,4 %, quinolonas como la ciprofloxacina 31,4 %, ampicilina (51,9 %) y ampicilina-sulbactam 32,2 %. Antibióticos con bajas resistencias fueron: nitrofurantoína (1,7 %), cefalosporinas de primera (8,76 %), segunda (7,5 %) y tercera generación (2,1 %) llegando a la conclusión de que *E. coli* aún es el germen más frecuentemente encontrado en urocultivos de pacientes con sospecha de IU tanto intra como extra-hospitalaria, sin embargo

otros gérmenes han aumentado su frecuencia. Las resistencias a trimetropim-sulfametoxazol y quinolonas son dramáticas (mayores al 30 %) lo cual obliga a revisar el perfil de resistencia local en cada hospital y seguramente replantear las guías de manejo de IU así como las de profilaxis para procedimiento urológicos.

B. Nacional

Pons (7) realizó un estudio transversal de vigilancia de la diarrea infantil, donde se incluyeron muestras fecales recogidas entre octubre de 2006 y noviembre de 2007 de niños con diarrea, en cuyos resultados de sensibilidad observaron elevados niveles de resistencia a AMP (62,6 %), SXT (48,6 %) y TET (43,0 %), mientras que la resistencia fue menos elevada a CHL (15,8 %) y GEN (10,4 %). Muestran los altos niveles de resistencia a antimicrobianos, especialmente en quinolonas en niños menores de un año, en Lima, sugiere un elevado consumo de antimicrobianos en la comunidad, el riesgo inminente de pérdida de eficiencia.

El Instituto Nacional de Salud (8) proporciona la información procedente de los hospitales sobre la resistencia a los antibióticos en los microorganismos aislados en pacientes hospitalizados. Determinado por la Vigilancia de la Resistencia a los antimicrobianos realizada durante el año 2008. Señalan que los microorganismos aislados con sus correspondientes perfiles de resistencia provienen de 5 laboratorios hospitalarios, teniendo como resultado que *Escherichia coli* es frecuentemente aislada en muestras de orina; seleccionando los aislamientos por este tipo de muestra observaron que, la resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas, antibióticos comúnmente usados, es alta, mientras que la resistencia más baja observaron para nitrofurantoína; concluyen que, los porcentajes de resistencia más altos en aislamientos de *Escherichia coli* de origen hospitalario observaron que la resistencia a cefalosporinas.

Gonzales (9) utilizaron los urocultivos positivos obtenidos en el laboratorio de microbiología del Hospital Nacional Cayetano Heredia de pacientes adultos en el periodo enero – junio del año 2008, donde se observó que *Escherichia coli* tenía una sensibilidad a trimetoprin sulfametoxazol de 52,3 %, ciprofloxacino 85,8 %, amikacina 97,2 %, ampicilina 40,9 %, ceftriaxona 95,6 % y cefuroxime 90,6%.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Mecanismo de acción de los antibióticos

Para lograr destruir o inhibir a los microorganismos, los antibióticos deben atravesar la barrera superficial de la bacteria y después fijarse sobre su diana, es decir, sobre alguna de las estructuras o mecanismos bioquímicos que le son necesarios para multiplicarse o para sobrevivir. Los mecanismos de acción de los antibióticos son diversos y a veces múltiples, pero todos operan en alguno de los siguientes puntos.

Impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos, de proteínas o de la pared celular o bien alterando la membrana celular de la bacteria sobre la que actúan, alterando rutas metabólicas. (10)

2.2.2. Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia antimicrobiana es un problema de carácter mundial que afecta a todos los grupos poblacionales, especialmente a los niños. El uso irracional de los antimicrobianos ha derivado en la emergencia y diseminación de microorganismos que son resistentes a drogas de primera línea, baratos y efectivos. (11)

Desde un punto de vista práctico una bacteria es sensible a un antibiótico, cuando el antibiótico es eficaz frente a ella y podemos esperar la curación de la infección; por el contrario es resistente cuando su crecimiento sólo puede ser

inhibido a concentraciones superiores a las que el fármaco puede alcanzar en el lugar de la infección. (10)

2.2.3. Clasificación sistemática de *Escherichia coli*

Reino	: Bacteria
Filo	: Proteobacteria
Clase	: Gammaproteobacteria
Familia	: Enterobacteriaceae
Género	: <i>Escherichia</i>
Especie	: <i>Escherichia coli</i>

Enterobacteria, también conocida por la abreviación de su nombre, *Escherichia coli*, es quizás el organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se puede encontrar en todo lado, porque es un organismo ubicuo. (1)

Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli* en honor a su descubridor.

Escherichia coli, es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no sólo por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. (2)

Forma parte de la familia Enterobacteriaceae. Ella está integrada por bacilos gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar Mac Conkey, 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. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50 % aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos y hasta el 80 % de todos los bacilos gram negativos identificados. (1)

Escherichia coli, también es la causa más frecuente de ITU adquirido intra hospitalariamente (nosocomial), se vuelven más importantes en frecuencia que en las infecciones extra hospitalarias. Además difieren en su sensibilidad antibiótica, ya que son resistentes a muchas drogas de uso frecuente. Sin embargo esta sensibilidad antibiótica es variable de ciudad en la ciudad de hospital en hospital, de acuerdo a la utilización de los antibióticos, tal como ha sido descrito en varios estudios. (12)

Integran también esta familia otros géneros por su asociación con infecciones intestinales, como son *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. *Escherichia coli*, es la especie tipo del género *Escherichia*. Incluye gérmenes generalmente móviles, que 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 inhibidos e 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 decarboxilan la lisina.

Se clasifican en más de 170 ser grupos O según las características antigénicas de su LPS y en serotipos por la combinación de antígenos O y H flagelares. Otros antígenos presentes en distintas cepas (capsulares, fimbriales y otros) han

sido empleados para su clasificación o identificación.

Escherichia coli, coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio.

Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se le considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes". Estas son enterobacterias que pertenecen al género *Escherichia* y a otros relacionados como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* o *Serratia*, y tienen en común la capacidad de fermentar la lactosa en un lapso no mayor de 48 horas, con producción de ácido y gas.

Tabla 1. Características de las colonias de *Escherichia coli* según medios

Organismo	Medios de Agar			
	EMB	MC	SS	BS
<i>Escherichia coli</i>	Centro oscuro con brillo metálico grisáceo	Rojas o rosas	Rojas o rosadas	La mayoría inhibidas

*EMB, agar eosina-azul de metileno; MC, agar MacConkey; SS, agar Salmonella-shigella; BS, agar bismuto sulfito

2.2.4. Mecanismos de resistencia de *Escherichia coli*

Escherichia coli, por su amplia capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias si carecen de diana para un antibiótico. La resistencia adquirida es importante desde un punto de vista clínico y es debido a

la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética. La primera puede ir seguida de la selección de las mutantes resistentes (rifampicina, macrólidos), pero la resistencia transmisible es la más importante, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones que pueden pasar de una bacteria a otra. (13)

2.2.5. Tipos de resistencia

1. Inactivación del antibiótico por enzimas. La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los Gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las Gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmica. (10).

2. Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana: Las bacterias producen mutaciones en las purinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios). En otras ocasiones pueden provocar la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa, impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente. (10).

3. Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico. Aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos) de las enzimas PBP_s (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos).

Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, todos estos complican de sobre manera el estudio de las resistencias de las bacterias a los distintos antimicrobianos.

2.2.6. Resistencia a los antibióticos que actúan sobre la pared bacteriana

La pared bacteriana presenta la doble característica de ser una estructura vital para los microorganismos que la poseen y exclusiva de estos. De manera que, el diseño o hallazgo de moléculas de antibióticos que actúan a este nivel, constituye una herramienta poderosa y segura para el combate de las infecciones bacterianas. Su principal función es de protección osmótica, permitiendo la supervivencia bacteriana en diversas condiciones de osmolaridad, incluyendo los cambios bruscos de un medio a otro. Esta función se lleva a cabo gracias al peptidoglicano, que actúa como una armadura o malla envolviendo la bacteria, ofreciéndole rigidez y estabilidad.

Sin embargo, para entender tanto el mecanismo de acción de los betalactámicos como sus mecanismos de resistencia, es necesario considerar no solo la estructura del peptidoglicán, sino también todo el mecanismo biosintético del mismo, el cual se encuentra acoplado al crecimiento bacteriano y a la regulación de diversos mecanismos de resistencia. (14)

2.2.7. Resistencia a betalactámicos

Los tres grandes mecanismos ya descritos pueden ponerse en juego: Trastornos en la permeabilidad, alteración del sitio blanco de acción e hidrólisis enzimática.

Los trastornos de permeabilidad se corresponden fundamentalmente con la disminución de la expresión de porinas. Como ya se ha dicho, no es un mecanismo que por sí mismo promueva altos niveles de resistencia, pero puede

ser muy importante en conjunción con distintos tipos de betalactamasas *Escherichia coli* (15).

Modificación del sitio blanco de acción: Como ya fue dicho, el sitio blanco de los betalactámicos son las diferentes Penicillin-bindingproteins (PBP). La información genética de estas proteínas se encuentra codificada en el genoma bacteriano y no en plásmidos. Sin embargo, elementos que regulan la expresión de esos genes sí puede ser codificada en un plásmido. Pueden distinguirse distintas alternativas para que se produzca una PBP que presente menor afinidad por los antibióticos. La expresión de un gen alternativo, que codifique una PBP básicamente distinta a la existente, es el caso de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente, donde la expresión del gen *mecA* produce una PBP alternativa PBP2 que es menos a fin a la totalidad de los betalactámicos. Con esto se quiere decir que la expresión del gen *mecA* genera la resistencia a la totalidad de los betalactámicos, independientemente de los resultados *in vitro*. Este sería el típico caso donde la regulación es mediada por plásmidos. (16)

Hidrólisis enzimática: Este mecanismo implica la inactivación de los betalactámicos como consecuencia de la acción de enzimas que reciben el nombre de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), y es el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos. Estas enzimas son un claro ejemplo de la plasticidad de la genética bacteriana. Probablemente originadas de un reducido grupo de enzimas cromosómicas, constituyen hoy una familia de proteínas de gran disimilitud, que ha requerido numerosas clasificaciones con el intento de poderlas agrupar. Las evidencias disponibles tienden a asignarle en un comienzo, alguna función particular en la síntesis de pared, sobre todo en bacterias Gram negativas.

2.2.8. Clasificación de las betalactamasas

Basándose en datos de secuencia parcial del ADN de las betalactamasas, Ambler en 1980 propone clasificarlas en cuatro clases: A, B, C y D. Las enzimas de clase A, cuyo prototipo es la enzima TEM-1, (actualmente presente en más del 50 % de los aislamientos de enterobacterias en general), están codificadas en plásmidos y su peso molecular oscila entre 25 y 30 kD, al igual que las de clase B y D. (14)

Las enzimas de clase C, están generalmente codificadas en el cromosoma bacteriano y son típicamente inducibles por betalactámicos. Se trata de proteínas que presentan unos 100 aminoácidos más que la de los otros grupos, por lo que su peso molecular suele rondar los 40 kD o más. En algunas especies, la región reguladora del gen ha desaparecido, y en consecuencia, la enzima se expresa constitutivamente.

Las enzimas de clase B requieren zinc para su actividad y son consideradas por ello metalobetalactamasas. En general son plasmídicas, inhibibles por EDTA, incluyéndose aquí las enzimas que confieren resistencia a los carbapenemes (14).

Las enzimas de clase D constituyen un grupo reducido de enzimas plasmídicas, con actividad incrementada sobre oxacilina (OXA-1), inhibibles por iones cloruros y de forma variable por inhibidores del tipo ácido clavulánico o sulbactam. Estas enzimas, al igual que lo observado en las enzimas de clase A, han ampliado su espectro de acción mediado por mutaciones puntuales, a partir de enzimas con actividad reducida a penicilinas como es el caso de las OXA derivadas.

2.2.9. Infección al tracto urinario (ITU)

El termino infección del tracto urinario (ITU) incluye un grupo heterogéneo de

condiciones con etiologías diferentes, que tienen por denominador común la presencia de gérmenes en el tracto urinario, cuando este es habitualmente estéril, asociada a sintomatología clínica variable. (4)

Las infecciones del tracto urinario (ITU) comprenden una gran variedad de cuadros clínicos, cuyo denominador común es la proliferación de microorganismos habitualmente bacterias en el aparato urinario, al que involucran total o parcialmente. Pueden conducir al deterioro de la función renal y ser la puerta de entrada de bacteriemias y sepsis con elevada morbimortalidad. La importancia de conocer la etiología más probable radica en que la mayoría de ITU adquiridas en la comunidad se trata empíricamente. Mayoritariamente están producidas por un número reducido de gérmenes. Se suele aislar un solo germen en el 95% de las ITU no complicadas, que en el 80%-90% de las veces suele ser *Escherichia coli*, seguida de otros gérmenes. Las infecciones poli microbianas se observan en pacientes con ITU complicadas, presentando mayores resistencias a antibióticos. (11)

2.2.10. Principales tipos de infección al tracto urinario (ITU)

A. ITU baja no complicada en mujeres

Ocurren en pacientes inmuno competentes sin alteraciones estructurales o metabólicas, responden rápidamente al tratamiento antibiótico y tienen baja incidencia de complicaciones.

Etiología. *E. coli* causa la mayoría de las infecciones (80 %), un 5-15 % es causada por *S. saprophyticus* y el restante 5-10 % por *Enterococos sp* y otros BGN como *Klebsiella sp*. Sin embargo, evidencias recientes confirmaron un rol más sustancial a otros patógenos; en dos estudios *E. faecalis* fue aislado con más frecuencia que *Escherichia coli*, este cambio en la etiología debería ser tomado en cuenta a la hora de indicarla terapéutica antibiótica.

Factores de riesgo. En mujeres jóvenes, la actividad sexual reciente, el retraso en la micción postcoital, el uso de preservativos no lubricados; en edades avanzadas, el déficit de estrógenos, la pobre higiene perianal, por ejemplo, en pacientes con demencia o enfermedad neurológica. (17)

Pielonefritis aguda no complicada

Etiología. *Escherichia coli*, en el 80 % de los casos.

Clínica. El espectro va desde una enfermedad leve con síntomas de cistitis hasta síndrome séptico; lo más común es un paciente febril con escalofríos, con dolor abdominal a predominio de flancos (PPL+) y con náuseas y/o vómitos.

B. ITU complicada

Se habla de ITU complicada cuando las condiciones existentes aumentan la probabilidad de persistencia o recurrencia de la infección o falla del tratamiento. Estos pacientes están en riesgo de bacteriemia y sepsis, abscesos renales y perirrenales, pielonefritis enfisematosa, deterioro de la función renal, etc.

Factores de riesgo y condiciones asociadas con ITU complicada.

Del tratamiento.- Falla del mismo, organismos resistentes, síntomas de ITU alta, obstrucciones, hipertrofia prostática, nefrolitiasis, residuo postmiccional, vejiga neurogénica. (16)

Metabólicas.- Nefrolitiasis, gota, hiperparatiroidismo.

C. ITU en varones

Son raras, excepto en los extremos de la vida; la prevalencia aumenta en varones mayores de 50 años, principalmente por hipertrofia prostática e instrumentación del tracto urinario bajo. (17)

Siempre se recomendó la evaluación urológica y radiológica del tracto urinario en todos los varones que presentan un episodio de ITU; estudios recientes sugieren que este paso no es tan necesario ya que, si bien la mayoría de los varones de

edad avanzada y un 30 % de los hombres jóvenes tienen una alteración anatómica, ésta no es relevante. Las anomalías más frecuentes son hipertrofia prostática, litiasis, y en menos casos estenosis uretral y cáncer vesical.

Clínica. Prostatitis aguda: se presenta con fiebre, síntomas de ITU baja y dolor perianal. Los episodios recurrentes pueden deberse a prostatitis crónica; el diagnóstico requiere urocultivo.

Cistitis o Uretritis. Mucho más comunes en varones jóvenes, especialmente si son circuncidados, homosexuales.

El diagnóstico es a través del urocultivo seguido por manifestaciones clínicas.

2.11. Diagnóstico

Los parámetros más importantes para el diagnóstico de una ITU son: signo, sintomatología clínica, sedimento urinario patológico y recuento de más de 100.000 colonias/ml de un germen compatible con ITU.

Sedimento urinario. Leucocituria significativa (>10 leucocitos por campo); no es específica de ITU, también hay leucocituria en la nefritis intersticial, litiasis uretral, TBC renal, contaminación con flujo vaginal.

Urocultivo. Se lleva a cabo con la orina de la primera micción de la mañana o con retención de tres horas o más, con higiene previa de genitales y desechando la primera parte de la micción, que arrastra los gérmenes de la uretra, recogiendo una muestra del segundo chorro o chorro medio en un recipiente estéril. La muestra debe procesarse dentro de las dos horas siguientes, si esto no es posible, debe conservarse refrigerada, donde puede permanecer por 24 horas sin que se altere significativamente el número de bacterias. (18)

2.12. Procesamiento del antibiograma

Selección de los discos de sensibilidad antibiótica

Se establece la relación de los discos de antibióticos que deberán ser utilizados en los antibiogramas de rutina, según las diferentes bacterias o grupos bacterianos, así como la modalidad del reporte de los mismos por parte de los laboratorios de Microbiología. La selección de los antibióticos que figuran en esta relación ha sido realizada teniendo en cuenta los siguientes criterios. (18)

- Eficacia clínica documentada.
- Representatividad de una familia de antibióticos.
- Disponibilidad de criterios técnicos fiables para la determinación *in vitro* de su eficacia clínica.
- Estabilidad de la molécula en los discos para antibiograma.
- Presencia en el mercado nacional.
- Importancia para la vigilancia de la resistencia bacteriana.

Los antibióticos han sido distribuidos para este efecto en dos grupos:

Grupo 1. En este grupo se encuentran los antibióticos de base indispensables para orientar el tratamiento de las diferentes infecciones, cuya inclusión en el antibiograma y reporte de los mismos es de carácter OBLIGATORIO (18).

Grupo 2. Este grupo reúne antibióticos complementarios cuya inclusión en el antibiograma y reporte es de carácter OPCIONAL, pues depende de los esquemas de antibioterapia vigentes en cada hospital y de la epidemiología local de la resistencia bacteriana. (18)

2.13. Discos de sensibilidad antibiótica a incluir en el antibiograma

Grupo I:

- Ácido Nalidíxico
- Meropenem

- Imipenem
- Gentamicina
- Amikacina
- Norfloxacin(*)
- Ciprofloxacina
- Cotrimoxazol (Trimetoprim/Sulfametoxazol)
- Nitrofurantoína(*)

(*) Disco de sensibilidad para urocultivo

Tamizaje de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): El procedimiento se realizó de acuerdo a lo establecido en el manual del Instituto Nacional de Salud (INS) (18)

- Amoxicilina/Ac. Clavulánico
- Ceftriaxona
- Ceftazidima
- Cefotaxima
- Aztreonam
- Cefotaxima

Confirmatoria de BLEE Método de Inhibidores

- Ac. Clavulánico/Ceftazidima
- Ac. Clavulánico/cefotaxima

Disco utilizado exclusivamente para infecciones de las vías urinarias. (Anexo 1)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de zona de estudio

3.1.1 Ubicación policía

El estudio se realizó en el Hospital regional de Ayacucho ubicado en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.1.2 Ubicación geográfica

Situada en la sierra central en el área meridional de los andes, tiene una superficie de 43 814 km². Situación es a 13°9'56" longitud sur y 74°13'40" longitud oeste, altura 2761 m.s.n.m de clima templado seco con una temperatura promedio de 17,5 °C la temporada de lluvia es de noviembre a marzo. Teniendo los meses restantes un promedio de 9 horas de sol.

3.2. Población

Todas las muestras recepcionadas en el periodo del 21 de agosto al 21 de diciembre del 2012 teniendo un total 390 muestras de orina con orden para urocultivo en el área de microbiología del Hospital Regional de Ayacucho.

3.3. Muestra

La muestra fue 61 urocultivos que cumplieron con el criterio de inclusión indispensable de ser positivos, al tener un crecimiento mayor o igual a 100 000 UFC/ml.

3.4. Metodología

1.- Fase pre analítica

A. Información al paciente

A.1 Sobre la obtención de muestra

- Se informó al paciente que debe recoger su muestra de orina en un recipiente estéril, preferentemente la de primera hora de la mañana por estar más concentrada, pero no imprescindible, pues también se pudo tomar orina retenida en vejiga por 4 horas, procedente del chorro medio de la micción previo lavado de los genitales externos teniendo en cuenta los siguientes detalles. (18)

A.2 Detalles

- Antes de orinar debe retraer el prepucio el varón o separar los labios con los dedos la mujer.
- Se explicó al paciente que debe recoger la porción de orina que corresponda aproximadamente a la mitad de la micción sin tocar con las manos o los genitales la superficie interna ni los bordes del recipiente.
- Se rotulo adecuadamente la muestra teniendo en cuenta el nombre del paciente fecha y hora de recolección de la muestra. (18)

B. Criterios de aceptación y/o rechazo de la muestra

Fue 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:

1. Primera orina chorro intermedio de la mañana o retenida en vejiga por cuatro horas.
2. Higiene previa de los genitales.
3. Recolectada en envase estéril de boca ancha.

4. Muestra que no tenga más de dos horas de haber sido recolectada.
5. Adecuada conservación de la muestra a 4°C
1. No indicar tipo de muestra o procedencia
2. No indicar tipo de examen en la orden
3. Demora en el envío al laboratorio
4. Medio de transporte inadecuado
5. Muestra sin rotular o mal rotulada
6. Muestra que tenga evidencias de haberse derramado
7. Recipiente inadecuado (con rajaduras por ejemplo)
8. Muestra con contaminación obvia
9. Volumen inadecuado

C. Conservación de la muestra

Se procesó la muestra dentro de las dos horas como máximo después de haber sido obtenida o se refrigeró a 4 °C (máximo 24 horas) hasta su procesamiento.

2. Fase analítica

2.1. Análisis cuantitativo

2.1.2. Siembra primaria de muestra de orina

Procedimiento

- a. Se mantuvo las muestras en refrigeración (4° C) hasta su procesamiento cultivo.
- b. Se realizó los cultivos frente al mechero de Bunsen con la indumentaria adecuada.
- c. Se atemperó las placas con Agar Sangre y Mac Conkey para ser utilizados en el urocultivo a temperatura ambiente y luego rotulamos las placas.
- d. Se esterilizó el asa de siembra flameándola en el mechero Bunsen hasta que se ponga rojo vivo. Deje enfriar el asa contando hasta 20.

- e. Se sujetó el frasco y homogenizó la muestra de orina, se abrió la tapa frente al mechero de Bunsen.
- f. Se tomó la muestra de orina con el asa de siembra estéril introduciéndola y sacándola del frasco en forma vertical. Tapamos el frasco con la muestra.
- g. Se Inoculó en el centro de la placa con Agar Sangre a partir del cual se extendió la muestra, hacia delante y hacia atrás. Luego, sin quemar el asa, el inóculo se diseminó uniformemente con trazos perpendiculares a la siembra inicial en toda la placa.
- h. Se procedió de la misma forma para el Agar Mac Conkey.
- i. Se esterilizó el asa de siembra en el mechero.
- j. Concluida la siembra, se incubó la placa de Agar Sangre y Mac Conkey a 35 - 37° C en condiciones aeróbicas por 24 horas.

Lectura

- a) Se realizó la evaluación seguida del recuento de colonias y se multiplicó por el factor de dilución para obtener las UFC por ml. A las 24 horas, si no hay crecimiento bacteriano se dejó incubar hasta las 48 horas. (19)

2.2 Análisis cualitativo

2.2.1. Identificación de bacilos Gram negativos fermentadores: *Escherichia coli*

Condiciones generales

Las bacterias Gram negativas fermentadoras se desarrollaron en agar sangre de carnero y Agar Mac Conkey, pero en agar sangre de carnero no podemos hacer mayor diferenciación entre las colonias, sin embargo, en el Agar Mac Conkey podemos diferenciar las colonias lactosa positivas y lactosa negativas.

Lectura de cultivos en Agar Mac Conkey

En Agar Mac Conkey, *Escherichia coli* lactosa positiva son colonias de borde

entero, de color fucsia opacas, de 2 mm - 3 mm de diámetro, usualmente rodeadas de una zona opaca alrededor de la colonia (bilis precipitada). Las cepas de *Escherichia coli* que son lactosa negativas dieron colonias incoloras de 3- 4 mm.

Las colonias con estas características fueron sub cultivadas en medios diferenciales.

Pruebas de identificación bioquímica

- a. Utilización de lactosa
- b. Utilización de glucosa
- c. Producción de gas de glucosa
- d. Descarboxilación de lisina
- e. Producción de ácido sulfhídrico
- f. Utilización de citrato
- g. Producción de ureasa
- h. Motilidad
- i. Producción de indol

Procedimiento

- a. Se identificó la colonia sospechosa que se encuentra en la placa de Agar MacConkey.
- b. Se esterilizó al rojo vivo el asa de siembra recta en un mechero de Bunsen.
- c. Se enfrió el asa.
- d. Se obtuvo la colonia seleccionada con el asa recta, tratando de no tocar el fondo del medio de cultivo ni otra colonia vecina.
- e. Se sembró por estría en los medios diferenciales empezando por el Agar citrato, urea (en la superficie) , TSI, LIA (introduciendo el asa por el centro hasta tocar el fondo del tubo, retirar por el mismo trazo y sembrar en estría.

- f. Se sembró por puntura en el centro del agar movilidad hasta una profundidad aproximada de 1.5 cm.
- g. Se incubó a 35–37° C de 18 a 24 horas.

1. AgarTSI

En este medio se determinamos la capacidad de la bacteria para utilizar la lactosa, glucosa y sacarosa (en TSI), con producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico.

Lectura

Es importante hacer la lectura entre las 18 - 24 horas para no obtener resultados erróneos.

La lectura se realizó sobre la base de tres características: Utilización de hidratos de carbono, producción de gas y producción de ácido sulfhídrico.

- 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)

No hay utilización del carbohidrato: Se puede observar una reacción alcalina (color rojo) o que no hay cambio de color (permanece del mismo color que el medio no inoculado) Abreviaturas: (K) o (N) respectivamente.

NOTA: Cuando el microorganismo también produce H₂S el precipitado negro puede ocultar la acidez.

- Producción de gas de glucosa:

Se consideró 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.

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

- Producción de ácido sulfhídrico:

Se manifestó por un color negro distribuido por toda la columna del medio de cultivo o sólo en la parte superior.

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

Controles

	Columna vertical (fondo)	Superficie inclinada (Pico de flauta)
<i>E. coli</i> (lactosa positivo)	amarillo/ gas	amarillo

Recomendaciones

Si se observa que no hay cambio de color en el tubo hasta las 24 horas seguir incubando hasta las 48 horas. Si no se observa viraje de color y hay desarrollo, se trata de una bacteria no fermentadora.

2. Agar Lisina Hierro

En este medio se determinó simultáneamente la producción de lisina descarboxilasa y de la formación de ácido sulfhídrico

Lectura

Es importante hacer la lectura entre las 18 - 24 horas; si la lectura se realiza antes podemos obtener resultados falsos positivos, así como falsos negativos si se lee después de las 24 horas.

Se realizó la lectura en la columna y en la superficie inclinada y se observó la formación de ácido sulfhídrico el cual se evidencia por una coloración negra

Controles

	Columna vertical (fondo)	Superficie inclinada (Pico de flauta)
<i>E. coli</i>	amarillo	Violeta

3. Utilización de citrato

Para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para su metabolismo:

Procedimiento

- a) Se incubó a 35 – 37° C 24 horas - 48 horas.
- b) Se observó si se produce el viraje de color.

Interpretación

- 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 (verde).

Controles

Negativo: *Escherichia coli*

Hidrólisis de la urea (producción de ureasa)

Es útil para determinar la capacidad de un organismo de degradar la urea, formando dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa.

Procedimiento

Se realizó la lectura después de 18 horas - 24 horas de incubación observando el viraje de color.

Interpretación

- Prueba positiva: Color rojo rosado intenso en el pico de flauta o todo el agar. Puede haber una reacción positiva retardada después de 24 horas y hasta 6 días de incubación (algunas cepas de *Klebsiella* por ejemplo).
- Prueba negativa: No se produce cambio de color.

Controles

Negativo. *Escherichia coli*

4. Rojo de metilo

Permite comprobar la capacidad del microorganismo para producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa determinando cualitativamente el pH del medio.

Procedimiento

El caldo se incubó a 35 – 37° C durante 48 a 72 horas.

Asépticamente se retiró 2,5 mL de caldo a un tubo estéril.

Se añadió directamente al caldo 5 gotas del reactivo rojo de metilo (indicador de pH)

Se interpretó el resultado del viraje de color inmediatamente.

Si la lectura fuera negativa continuar la incubación para repetir la prueba

Interpretación

Prueba positiva: Color rojo

Prueba negativa: Color amarillo o naranja.

Controles

Control positivo: *Escherichia coli*

Control negativo: *Klebsiella pneumoniae*

Motilidad (Medios SIM, o MIO o agar movilidad)

Se determinó si un organismo es móvil o inmóvil.

Procedimiento

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

Resultados

Positivo: Los microorganismos migraron de la línea de siembra y se difundieron en el medio provocando turbidez. También se manifestó semejando “vellosidades” a lo largo del trazo de siembra.

Negativo: Se observa un crecimiento bacteriano acentuado siguiendo el trazo de

siembra, y el medio circundante se mantiene claro.

Controles

Control positivo: *Escherichia coli*

Control negativo: *Klebsiella pneumoniae*

2.3 Análisis de resistencia a los antimicrobianos

2.3.1. Preparación del inóculo

Método directo de inoculación a partir de colonias aisladas

- De una placa de cultivo con agar no selectivo e incubada por 18 - 24 h, se seleccionó colonias aisladas y se preparó una suspensión directa en solución salina ó caldo.
- Se ajustó la suspensión a la escala 0,5 de Mac Farland.
- Se verificó la densidad correcta del estándar (0,5 Mac Farland) para el inóculo.
- La suspensión que se preparó contiene aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/ml para *E. coli* ATCC 25922. (19)

2.3.2. Inoculación de las placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotamos el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.
- Se inoculó la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo (Figura 1). Antes de colocar los discos dejé secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

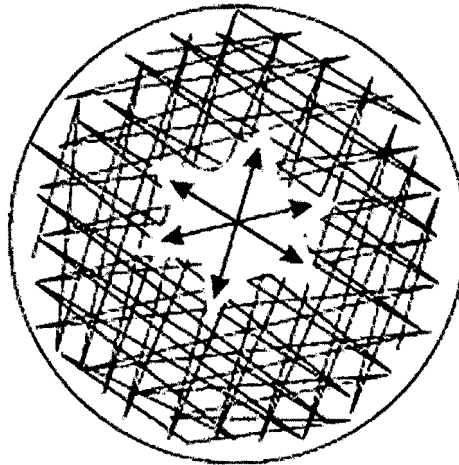


Figura 1 Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar

2.3.4. Aplicación de los discos

- Se colocó los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril y se presionó suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.
- Se distribuyó los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm). No deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, ni más de 6 en una placa de 100 mm de diámetro interno, para evitar la superposición de las zonas de inhibición. Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

Incubación

- Se incubó las placas en posición invertida a 37°C por 24 Horas.

2.4 Detección de las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido

Algunas cepas productoras de estas enzimas han presentado halos de inhibición lo suficientemente grandes como para ser clasificadas erróneamente como sensibles a las Cefalosporinas de tercera generación y a Aztreonam. Con el objeto de superar esta dificultad, en el (Anexo 2) señala los diámetros para Ceftazidima, Cefotaxima, Ceftriaxona y Aztreonam que serán utilizados como test de tamizaje y que permiten sospechar la presencia de estas enzimas: Si la cepa estudiada presenta halos de inhibición, para al menos uno de estos antibióticos, iguales o inferiores a los diámetros referidos se realizó un test confirmatorio de la presencia de "betalactamasas de espectro extendido" (18).

2.4.1. Test confirmatorio de la presencia de "betalactamasas de espectro extendido" (según el NCCLS - USA):

Este test requirió el uso de discos habituales de Ceftazidima (30 mg), Cefotaxima (30 mg), así como de Ceftazidima/Ácido Clavulánico (30/10 mg) y Cefotaxima/Ácido Clavulánico (30/10 mg), con los que se realizó un test de disco difusión sin ninguna variante.

Si los discos de Ceftazidima/Ácido Clavulánico y Cefotaxima/Ácido Clavulánico presentan zonas de inhibición superiores 5 mm a aquellos producidos por los discos de Ceftazidima y Cefotaxima, respectivamente, se consideró el test como positivo.(18)

2.4.2. Test de screening o confirmatorio de la presencia de "betalactamasas de espectro extendido"

Este test requirió el uso de discos habituales de Amoxicilina/Acido Clavulánico (20/10 mg), Ceftazidima(30 mg) y/o Cefotaxima (30 mg) y/o Aztreonam (30 mg)

y/o Ceftriaxona, con los que se realiza un test de disco difusión sin ninguna variante.

Los discos de Ceftazidima, Aztreonam, Cefotaxima y Ceftriaxona se disponen a 30 mm del disco de Amoxicilina/Ácido Clavulánico (distancia de centro a centro de los discos).

Si una imagen de sinergia aparece entre el disco Amoxicilina/Ácido Clavulánico y los discos de Ceftazidima y/o Aztreonam y/o Cefotaxima y/o Ceftriaxona, se consideró el test como positivo (18).

Cepas de referencia para el control de calidad interno

Escherichia coli ATCC 25922.

Escherichia coli ATCC 35218 (para combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas).cedidas por el área de microbiología del hospital regional de Ayacucho.

3.- Fase post analítica

3.1. Validación.

Se tuvo en cuenta para la validación de resultados los diferentes controles de calidad internos desarrollados para cada lote de medio o reactivos preparados los cuales constan en los registros obtenidos.

3.2. Interpretación de los resultados

3.2.1. Análisis cuantitativo

Fueron necesarios tener en cuenta los siguientes criterios.

Criterios de kass

Son los criterios bacteriológicos utilizados para establecer la existencia o no de ITU, en función del número de unidades formadoras de colonias (UFC) en el urocultivo realizado a partir de la orina obtenida por micción media directa o bolsa adhesiva, tras la limpieza cuidadosa con agua y jabón de los genitales

externos. Estas técnicas de recogida llevan implícita la existencia de una contaminación con flora bacteriana uretral, vulvar o prepucial.

- En paciente sintomático, un solo cultivo urinario de un germen habitual en las IU, con más de 100 000 UFC/ml indicó una probabilidad de infección del 80%. Si dos urocultivos presentan recuentos iguales o superiores a 100 000 UFC/ml del mismo germen, la probabilidad de infección es del 96 %. Si son tres los urocultivos con recuentos iguales o mayores a esta cifra, la probabilidad de infección es del 99 %.
- Recuentos inferiores a 10 000 UFC/ml se consideró indicativos de contaminación fisiológica.
- Los recuentos intermedios, más de 10 000 y menos de 100 000 UFC/ml, se consideraron como sospechosos de infección y obligó a la realización de nuevas determinaciones.
- La ITU es habitualmente mono bacteriana, por lo que urocultivos con dos o más gérmenes deben ser considerados como contaminados y no significativos, aunque el recuento sea superior a 100 000 UFC/ml.(14)

Otros factores

- a. En pacientes sin sonda vesical, la cuenta significativa de bacterias en orina ha sido la presencia de más de 10^5 UFC/ml de un solo germen.
- b. Los recuentos intermedios (10^3 - 10^4 UFC/ml) indicaron infección si el procedimiento de recolección de orina fue realizado correctamente.
- c. Generalmente, el aislamiento de tres o más especies bacterianas indicaron que la muestra se ha contaminado por recolección inadecuada o demora en la siembra.

- d. En pacientes con sonda vesical, cuentas bacterianas menores de 10^5 UFC/ml pudieron tener significado, así también se pueden encontrar bacteriurias polimicrobianas hasta en casi 15 % de enfermos.
- e. En pacientes sin catéter se puede comprobar si el procedimiento de obtención de muestra fue realizado correctamente observando la frecuencia con la cual se informan recuentos de colonias intermedias entre $10^3 - 10^4$ UFC/ml. En pacientes sin infecciones del tracto urinario, el recuento es nulo o se reduce a pocas colonias.
- f. En muestras obtenidas por punción supra púlica, el desarrollo de una sola colonia en el medio de cultivo indica infección del tracto urinario.

NOTA 1: De no contar con asa calibrada, utilizar tips estériles y micropipeta de $1\mu\text{l}$ o $10\mu\text{l}$

El conteo será obtenido por el conteo de UFC por la inversa de la dilución para cuya interpretación tendrá los siguientes criterios.

3.2.2. Análisis cualitativo

Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla o calibrador. Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro. Se tuvo la precaución de observar la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas de la regla por efecto de paralelismo.

Los diámetros de inhibición los interpretaremos basándonos en el (Anexo 1). La sensibilidad de la cepa bacteriana será reportada como sensible (S), intermedio (I), o resistente (R).

Establecimos multiresistencia a las cepas que tengan resistencia a más de 3 antibióticos.

Reporte de antibiograma de las enterobacterias productoras de “betalactamasas de espectro extendido”.

Una vez detectadas las cepas productoras de estas “betalactamasas de espectro extendido” fueron reportadas como resistentes a todas las penicilinas, las cefalosporinas de todas las generaciones (incluyendo los de cuarta generación) y al Aztreonam, cualquiera que sea el diámetro de los discos de estos antibióticos. (18)

3.5. Tipo de investigación

Básica - Descriptiva

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Frecuencia de microorganismos aislados en urocultivos positivos de los pacientes.

Microorganismo	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	7	11	39	64	46	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3,5	3	5	5	8,5
Otros	2	3,5	8	13	10	16,5
					61	100

Tabla 3. Patrones de sensibilidad y resistencia a quinolonas de cepas de *Escherichia coli*.

Quinolonas	Sensible		Intermedio		Resistente		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ciprofloxacino	23	50	3	6,5	20	43,5	46	100
Ac. Nalidixico	10	22	0	0	36	78	46	100
Norfloxacino	20	43	0	0	26	57	46	100

Tabla 4. Patrones de sensibilidad a carbapenems de cepas de *Escherichia coli*.

Carbapenems	Sensible		Total	
	Nº	%	Nº	%
Meropenem	46	100	46	100
Imipenem	46	100	46	100

Tabla 5. Patrones de sensibilidad y resistencia a los aminoglucósidos de cepas de *Escherichia coli*.

Aminoglucósidos	Sensible		Intermedio		Resistente		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Gentamicina	44	96	0	0	2	4	46	100
Amikacina	44	96	1	2	1	2	46	100

Tabla 6. Patrones de sensibilidad y resistencia a otros antibióticos de cepas de *Escherichia coli*.

Antibióticos	Sensible		Intermedio		Resistente		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sulfametoxazol y trimetropin	16	35	0	0	30	65	46	100
Nitrofurantoina	37	80	5	11	4	9	46	100

Tabla 7. Patrones de sensibilidad y resistencia a cefalosporinas de cepas de *Escherichia coli*.

		Sensible	Resistente	TOTAL
Cefalosporinas	Nº	24	22	46
	%	52	48	100

Tabla 8. Cepas positivas y negativas de *Escherichia coli* según el Screening de BLEE y métodos de confirmación.

Método		Positivo	Negativo	TOTAL
Screening	Nº	22	24	46
	%	48	52	100
Método de Hogde	Nº	21	25	46
	%	46	54	100
Método de Inhibidores	Nº	21	25	46
	%	46	54	100

V. DISCUSIÓN

Se obtuvo que el 75 % de infecciones urinarias son producidas por *Escherichia coli*, teniendo una mayor frecuencia en las mujeres con un 64 %, porque está influenciada por factores de riesgo como, la anatomía de la vagina, la actividad sexual reciente, el retraso en la micción postcoital, el uso de preservativos no lubricados, el déficit de estrógenos, la deficiente higiene perianal y un 11 % en los varones, teniendo en cuenta que, en los extremos de la vida, la prevalencia aumenta en hombres mayores de 50 años, principalmente por hipertrofia prostática e instrumentación del tracto urinario bajo.(17). Al respecto Gonzales (9) reportó que el 78 % de infecciones urinarias era producida por *Escherichia coli*, cabe resaltar que dicho autor realizó un trabajo descriptivo retrospectivo y aun así tenemos una diferencia del 3 %.

Los patrones de resistencia de las cepas de *Escherichia coli* uropatógeno fue de 78 % frente a quinolonas, un 43,5 % frente al ácido Nalidixico (quinolona de primera generación) y un 57 % de resistencia al ciprofloxacino y norfloxacino, respectivamente, que son fluoroquinolonas (quinolonas de segunda generación) probablemente debido, a que la alteración por parte de la bacteria en su punto diana impidió o dificultó la acción del antibiótico relacionando con alteraciones a nivel del ADN girasa la cual confiere la resistencia a las quinolonas (15).

Además, Gonzales (9) reportó en el 2008 una resistencia de 50,25 % para el norfloxacino y un 49,59 % de resistencia para el ciprofloxacino. Otro dato importante es el obtenido frente a los carbapenems con una sensibilidad del 100 %, esto debido a que los carbapenems son un grupo de antibióticos pertenecientes a los betalactámicos de amplio espectro resistente a betalactamasas. El Instituto Nacional de Salud (INS) (11) en su informe realizado en el 2008, no reportó cepas resistentes a carbapenems en los diferentes nosocomios de la ciudad de Lima. Otro dato con alta sensibilidad se dio en el grupo de los aminoglucósidos donde el 96 % de las cepas aisladas resultaron sensibles, teniendo una resistencia del 4 % para la gentamicina y un 2 % para la amikacina. Gonzales reportó una resistencia a la amikacina de 1,88 % y 24,44 % para la gentamicina, asimismo en (INS) reportó una resistencia de 2,9 % para la amikacina y 28,2 % de resistencia para gentamicina en los centros nosocomiales de la ciudad de Lima. En el informe realizado por el INS (11) en 2008 se observa una resistencia del 65 % al sulfametoxasol más trimetropin y 9 % de resistencia a la nitrofurantoina. La mayoría de las infecciones al trato urinario adquiridas en la comunidad e intrahospitalarias son tratadas inicialmente de manera empírica (20, 21, 22) excepcionalmente existen guías institucionales basadas en la frecuencia potencial de los diferentes patógenos, resistencia local antimicrobiana y severidad de la infección (6). Además tener en cuenta que las cepas difieren en su sensibilidad antibiótica, ya que son resistentes a muchas drogas de uso frecuente. Sin embargo esta sensibilidad antibiótica es variable de ciudad en ciudad y de hospital en hospital, de acuerdo a la utilización de los antibióticos tal como han sido descritos en varios estudios (12, 23, 24).

En el presente trabajo, se observó que el 48 % de cepas aisladas de *Escherichia coli* producía la enzima betalactamasas de espectro extendido (BLEE) positivas,

de las cuales sólo el 46 % fueron confirmados por los métodos de Hodge e inhibidores, teniendo así una cepa en el screening, pero salió negativo en las pruebas confirmatorias. La resistencia que presentan estas cepas BLEE positivas es debido a la hidrólisis enzimática, el cual implica la inactivación de los betalactámicos por acción de las enzimas que reciben el nombre de betalactamasas. (10)

VI. CONCLUSIONES

1. El 75 % de las infecciones urinarias son producidas por *Escherichia coli*, 64 % en mujeres y 11 % en varones, solo el 25 % es causado por otros microorganismos.
2. Los patrones de resistencia de las cepas aisladas de *Escherichia coli* presentaron una resistencia del 78 % al ácido nalidixico (quinolona de primera generación), un 43,5 % y 57 % para el ciprofloxacino y norfloxacino respectivamente (fluroquinolonas), una resistencia del 0 % para en imipenem y meropenem (carbapenems), 4 % de resistencia a la gentamicina y un 2 % para la amikacina (aminoglucosidos) y otros antibióticos como el sulfametoxazol mas trimetropin con un 65 % de resistencia y la nitrofurantoina con 9 %.
3. El 48 % de las cepas aisladas de *Escherichia coli* resultaron ser BLEE positivas de las cuales solo el 46 % de estas cepas fueron confirmadas por los métodos de Hogde e inhibidores.

11. Instituto Nacional de Salud informe de la resistencia antimicrobiana en hospitales en Perú. Lima Perú; 2007.
12. Bejarano AF. Infección del tracto urinario en niños hospitalizados en el Departamento de Pediatría del Hospital Cayetano Heredia (2001-2007). Lima, Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2008.
13. García Rodríguez JA, García Sánchez E. Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: Eficacia in vivo Eficacia in vitro. Madrid-Barcelona: edDoyma, S.A; 2003.
14. Ayala J. Genética molecular de la pared microbiana. Nuevos blancos susceptibles de inhibición. En: Vicente M, editor. Avances en Ingeniería Genética. Series Nuevas Tendencias. Madrid:CSIC; 2002.
15. Rigly V. Principales mecanismos de resistencia antibiotic. Madrid España; 2004.
16. Vignoli R. Principales mecanismos de resistencia bacteriana. Madrid España; 2004.
17. Rabanaque G. Infecciones del tracto urinario Guía de actuación clínica. Madrid España; 2009.
18. Instituto Nacional de Salud Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión Lima Perú; 2002
19. Instituto Nacional de Salud Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias Lima Perú; 2002.
20. Har CA. Antibiotic resistance: anincreasing problem?. BMJ, 2004.
21. Herrera K, Espinoza M, Mejía Y, Zambrana I, Silva E, Rojas J, Gadea W, Chavarría S, Hernández M, Ramirez M, Membreño J, Lara E, Saenz J, Valle S, Torrez A. Resistencia antimicrobiana en Hospitales nor-

occidentales de Nicaragua. Universitas, Volumen 1, Año 1, 2007,27-32 © 2007 UNAN-León, Editorial Universitaria.

22. Homa QG. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima Perú; 2003.
23. Rossi P. Infección urinaria en mayores de 60 años hospitalizados en el Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara. Lima Perú; 2011.
24. Tolkoff NE, Rubin RH, New approaches to the treatment of urinary tractinfection. Am J Med 1; 2002.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 9. Diámetros de halos de inhibición según antibióticos

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	³17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£14	15-22	³23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefoxitina	30 µg	£14	15-17	³18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	³23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	³21
Ceftazidima	30 µg	£14	15-17	³18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	³19
Cefpirome *	30 µg	£14	15-17	³18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³18
B LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Ampicilina/Subbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	³15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£13	14-17	³18
Cefoperazona/subbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³21
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
Meropenem	10 µg	£13	14-15	³16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	£12	13-14	³15
Amikacina	30 µg	£14	15-16	³17
QUINOLONAS				
Acido nalidixico	30 µg	£ 13	14-18	³19
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	³17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³21
Ofloxacin	5 µg	£ 12	13-15	³16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³19
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75 µg	£ 10	11-15	³16

Fuente. INS (18)

Anexo 2

Tabla 10. Diámetros de halos de inhibición según antibiótico

ANTIBIOTICO-CONCENTRACION	HALO DE INHIBICION
Aztreonam 30 mg	£27mm
Ceftazidima 30 mg	£22mm
Cefotaxima 30 mg	£27mm
Ceftriaxona 30 mg	£25mm

Fuente. INS (18)

Anexo3

Tabla 11. Límites aceptables (mm) de diámetros de halos de inhibición para control de pruebas de disco difusión


ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 5218	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212
Amitacina	30 mg	19-26	20-26	18-26		
Amoxicilina/Ácido clavulánico	20/10 mg	19-25	28-36		18-22	
Ampicilina	10 mg	16-22	27-35			
Ampicilina/sulbactam	10/10 mg	20-24	29-37		13-19	
Aztreonam	15 mg		21-26			
Aztreonam	30 mg	28-36		23-29		
Cefaclor	30 mg	23-27	27-31			
Cefaclorina	30 mg	15-21	29-37			
Cefazolina	30 mg	23-29	29-35			
Cefepime	30 mg	29-35	23-29	24-30		
Cefotima	5 mg	23-27				
Cefoperazona	75 mg	28-34	24-33	23-29		
Cefotaxima	30 mg	29-35	25-31	18-22		
Cefotaxima	30 mg	23-29	23-29			
Ceftazidima	30 mg	25-32	16-20	22-29		
Ceftiazona	30 mg	29-35	22-28	17-23		
Cefuroxima	30 mg	20-26	27-35			
Cifranicol	30 mg	21-27	19-26			
Ciprofloxacina	5 mg	30-40	22-30	25-33		
Cindamicina	2 mg		2-10			
Doxiciclina	30 mg	18-24	23-29			
Eritromicina	15 mg		22-30			
Espartoxacina	5 mg	30-38	27-33	21-29		
Estreptomina	10 mg	12-20	14-22			
Estreptomina	300 mg					14-19
Gentamicina Q	10 mg	19-26	19-27	16-21		
Gentamicina	120 mg					16-22
Imipenem	10 mg	26-32		20-28		
Kanamicina	30 mg	17-25	19-26			
Levofloxacina	5 mg	29-37	25-30	19-26		
Meropenem	10 mg	28-34	29-37	27-33		
Acido Nalidixico	30 mg	22-28				
Nitrofurantoina	300 mg	20-25	18-22			
Norfloxacina	10 mg	28-35	17-28	22-29		
Oftoacina	5 mg	29-33	24-28	17-21		
Oxacilina	1 mg		18-24			
Penicilina	10 unidades		26-37			
Ritampicina	5 mg	8-10	26-34			
E streptomina Q	10 mg	12-20	14-22			
Tecoplanina	30 mg		15-21			
Tetraciclina	30 mg	18-25	24-30			
Trimetoprim/Sulfametoxazol	1.25/23.75 mg	24-32	24-32			
Vancomicina	30 mg		17-21			

Fuente: INS (18)

Anexo 6

Tabla 13. Resultados obtenidos de los antibiogramas

Nº DE MUESTRA	EPUN1	EPUN2	EPUN3	EPUN4	EPUN5	EPUN6	EPUN7	EPUN8	EPUN9	EPUN10	EPUN11	EPUN12	EPUN13	EPUN14	EPUN15
	1115	1115	1122	1154	1154	1163	1163	1164	1172	1183	1236	1237	1238	1239	1240
PROCEDECIA	Sot	Sot	Sot	ERF	ERF	Sot	Col	ERF	ERF	ERF	ERF	ERF	ERF	ERF	ERF
EDAD	42	RM	76	36	S	85	RM	19	RM	60	66	61	60	32	
SEXO	F	F	M	F	M	F	F	F	M	F	M	F	F	F	F
UROCULTIVO	SIGLA	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry
OFLOXACINO	OFX	S	S	R	R	S	R	R	S	S		S	S	R	
AC HALOXICO	EM7	S	R	R	R	S	-	R	R	R	R		S	S	R
SULFAMETRIMETRO	SXT	S	S	R	R	R	-	R	R	R	R		R	S	R
MEMOPEM	MEM	S	S	S	S	S	-	S	S	S	S		S	S	S
IMPDEM	IPM	S	S	S	S	S	-	S	S	S	S		S	S	S
GENTAMICINA	GM	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S		S	S	S
AMOXICINA	AMX	S	S	R	S	S	-	S	S	S	S		S	S	S
INTROFURANTONA	FD	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S		S	S	R
BLEE	BLEE	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-		-	+	+
AZITRONAM	ATM	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
AMOXIC CLAVU	AMC	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
CEFTRAXOMA	CRD	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
CEFATAZIMA	CTX	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
CEFOPOTINA	FOX	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
CEFTAZODIA	CAZ	S	S	R	S	S	-	R	R	S	S		S	R	R
BLEE CONFIR	SIGLA	Ry	Ry	Ry	Ry	Ry	-	Ry	Ry	Ry	Ry		Ry	Ry	Ry
CEFATAZIMA	CTX	-	-	6mm	-	-	-	12mm	12mm	-	-		-	12mm	14mm
CEFATAZ - CLAVU	-	-	-	12mm	-	-	-	18mm	25mm	-	-		-	18mm	21mm
CEFTAZODIA	CAZ	-	-	6mm	-	-	-	18mm	17mm	-	-		-	18mm	20mm
CEFATAZ - CLAVU	-	-	-	18mm	-	-	-	24mm	25mm	-	-		-	22mm	27mm
METODO DE HOGUE	-	-	-	Ry	-	-	-	Ry	Ry	-	-		-	Ry	Ry
CEFATAZIMA	CTX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-
CEFTRAXOMA	CRD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-
CEFTAZODIA	CAZ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-
AZITRONAM	ATM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-


 HOSPITAL REGIONAL DE PUNTAJE CLÍNICAS
 Laboratorio de Patología Clínica

HOSPITAL REGIONAL DE PUNTAJE CLÍNICAS
 Laboratorio de Patología Clínica
 Lucha Rosario Cordero Escal
 C.B.P. 1800
 Depto. Microbiología

Anexo 7

Tabla 14. Resultados obtenidos de los antibiogramas

Nº DE MUESTRA	11/20		11/21		11/22		11/23		11/24		11/25		11/26		11/27	
	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int
PROCEDENCIA	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int
EDAD	49	65	35	6	6	76	36	22	1	27	22	3	RM			
SEXO	F	M	F	F	F	M	F	F	F	M	F	F	F	F	F	F
UROCULTIVO	SIGLA		Nig	Nig	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos
CIPROFLOXACINO	CP	S	S	S	S	S	R	R		S	S	S	R	S	S	S
NORFLOXACINO	NOR	S	S	R	R	R	R	R		R	S	S	R	S	S	S
AC/ALUDOCO	ENV	R	S	R	S	R	R	R		R	R	S	R	S	S	S
OFOXACINO	OFX															
GULFAME/TEMETRO	SXT	S	S	S	R	R	R	S		S	R	S	R	S	S	S
MEROPEM	MEN	S	S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
IMEPEM	IPM	S	S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
GENTAMICINA	GM	S	S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
AMIKACINA	AK	S	S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
NITROFRANTOINA	FD	S	S	S	R	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
BLEE	SIGLA		Nig	Nig	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos
AZTREONAM	ATM	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
AMOXICILAVU	AMC	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
CEFTRAXONA	CRD	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
CEFATAXMA	CTX	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
CEFOXITINA	FOX	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
CEFTAZIDIMA	CAZ	S	S	S	R	S	R	S		R	S	S	R	R	R	R
BLEE CONFIR	SIGLA		Nig	Nig	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos	Nig	Pos
CEFATAXMA	CTX	-	-	-	10mm	-	11mm	-		12mm	-	-	13mm	14mm	-	-
CEF ATX - CLAVU		-	-	-	15mm	-	16mm	-		17mm	-	-	18mm	19mm	-	-
CEFTAZIDIMA	CAZ	-	-	-	20mm	-	21mm	-		22mm	-	-	23mm	24mm	-	-
CEFTAZI - CLAVU		-	-	-	25mm	-	26mm	-		27mm	-	-	28mm	29mm	-	-
METODO DE HOGOC		-	-	-	Pos	-	Pos	-		Nig	-	-	-	-	-	-
CEFATAXMA	CTX	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
CEFTRAXONA	CRD	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
CEFTAZIDIMA	CAZ	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
AZTREONAM	ATM	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-

[Handwritten signature]
 LUCIA ROSARIO CHOCOLATA ESCOBAR
 C.B.P. 1909
 Bióloga - Microbióloga

LUCIA ROSARIO CHOCOLATA ESCOBAR
 C.B.P. 1909
 Bióloga - Microbióloga

Anexo 8

Tabla 15. Resultados obtenidos de los antibiogramas

Nº DE MUESTRA	UBR	13124	13125	13126	13127	13128	13129	13130	13131	13132	13133	13134	13135	13136	13137	13138
	MO	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro	Febro
PROCEDENCIA	SIGLA	33	36	50	RM	51	RN	6A	6I	1	22	32	44			73
EDAD		F	F	F	F	F	F	M	M	F	F	F	M			M
SEXO		Mg	Mg	Po	Mg	Mg	Po	Po	Mg	Mg	Po	Mg	Po	Mg		Mg
CIPROFLOXACINO	CIP	S				R	S	R	R	S	R	S	R			R
LORFLOXACINO	NOR	S				R	S	R	R	S	R	S	R			R
AC. HALIDOXIDO	EMF	S				R	R	R	R	S	R	S	R			R
OFOXACINO	OFX															
SULFAMETROXETRO	EXT	S				R	R	R	S	S	R	S	R			R
MEROPENEM	MEM	S				S	S	S	S	S	S	S	S			S
IMPENEM	IPM	S				S	S	S	S	S	S	S	S			S
GENTAMICINA	GM	S				S	S	S	S	S	S	S	S			R
AMIKACINA	AMK	S				S	S	S	S	S	S	S	S			R
NITROFURANTOINA	FD	R				S	R	R	S	S	S	S	S			R
BLEE	SIGLA	Po				Po	Po	Po	Po	Mg	Po	Mg	Po			Po
AZTREONAM	ATM	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
AMOXICILAVU	AMC	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
CEFTRAXONA	CRD	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
CEFATAZIMA	CTX	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
CEFOTIAXA	FOX	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
CEFTAZIDIMA	CAZ	R				R	R	R	R	S	R	S	R			R
BLEE CONFIR	SIGLA	Po				Po	Po	Po	Po	Mg	Po	Mg	Po			Po
CEFATAZIMA	CTX	R=0				R=0	R=0	R=0	R=0	-	R=0	-	R=0			R=0
CEFATX-CLAVU		23mm				25mm	25mm	25mm	25mm	-	25mm	-	25mm			25mm
CEFTAZIDIMA	CAZ	17mm				15mm	15mm	14mm	16mm	-	15mm	-	20mm			15mm
CEFTAZID-CLAVU		19mm				22mm	25mm	24mm	22mm	-	21mm	-	21mm			23mm
METODO DE HOGUE		Po				Po	Po	Po	Po	-	Po	-	Po			Po
CEFATAZIMA	CTX	-				-	-	-	-	-	-	-	-			-
CEFTRAXONA	CRD	-				-	-	-	-	-	-	-	-			-
CEFTAZIDIMA	CAZ	-				-	-	-	-	-	-	-	-			-
AZTREONAM	ATM	-				-	-	-	-	-	-	-	-			-

[Handwritten signature]

HOSPITAL REGIONAL DE SUCUBO
 Laboratorio de Pruebas Clínicas
 Lucía Rosarío Cordero Tacuri
 C. B. P. 1009
 Bijo, Microbióloga

Anexo 9

Tabla 16. Resultados obtenidos de los antibiogramas

Nº DE MUESTRA		12/01/1997	12/01/1997	12/01/1997	12/01/1997	12/01/1997
PROCEDENCIA		Ext	Ext	Ext	Ext	Ext
EDAD		70	74	62	73	20
SEXO		F	F	F	F	F
URCULTIVO	SIGLA	Phy	Phy	Phy	Phy	Phy
CIPROFLOXACINO	OP	R	S	S	R	R
NORFLOXACINO	NOR	R	S	S	R	R
AC. NAUQUINO	EMV	R	R	R	R	R
OFLOXACINO	OFX					
SULFAME/TRIMETRO	SXT	R	R	R	R	R
MEROPEDEM	MEM	S	S	S	S	S
MARPEM	MPM	S	S	S	S	S
GENTAMICINA	GM	S	S	S	S	S
AMIKACINA	AMK	S	S	S	R	S
NITROFURANTOINA	FD	S	S	S	R	R
BLEE	SIGLA	Phy	Phy	Phy	Phy	Phy
AZITREONAM	ATM	R	S	S	R	R
AMOXICILAVU	AMC	R	S	S	R	R
CEFTRAXOMA	CRD	R	S	S	R	R
CEFALOXIMA	CTX	R	S	S	R	R
CEFOTIXA	FOX	R	S	S	R	R
CEFTAZIDIMA	CAZ	R	S	S	R	R
BLEE CONFIR	SIGLA	Phy	Phy	Phy	Phy	Phy
CEFALEXIMA	CTX	18mm	-	-	18mm	16mm
CEFALOX - CLAVU		18mm	-	-	21mm	21mm
CEFTAZIDIMA	CAZ	18mm	-	-	18mm	21mm
CEFTAZI - CLAVU		18mm	-	-	21mm	22mm
METODO DE HOGGE		Phy	-	-	Phy	Phy
CEFALEXIMA	CTX	-	-	-	-	-
CEFTRAXOMA	CRD	-	-	-	-	-
CEFTAZIDIMA	CAZ	-	-	-	-	-
AZITREONAM	ATM	-	-	-	-	-

[Handwritten signature]
 PATR...
 ...

HOSPITAL REGIONAL DE ASISTENCIA
 Laboratorio de Pruebas Clínicas
[Signature]
 Lucía Rosario Contreras Tacaí
 C.R.P. 1800
 Biología Microbiológica

Anexo 10



Fig. 3 Materiales usados para el urocultivo

Anexo 11



Fig. 4 Proceso de siembra del urocultivo

Anexo 12

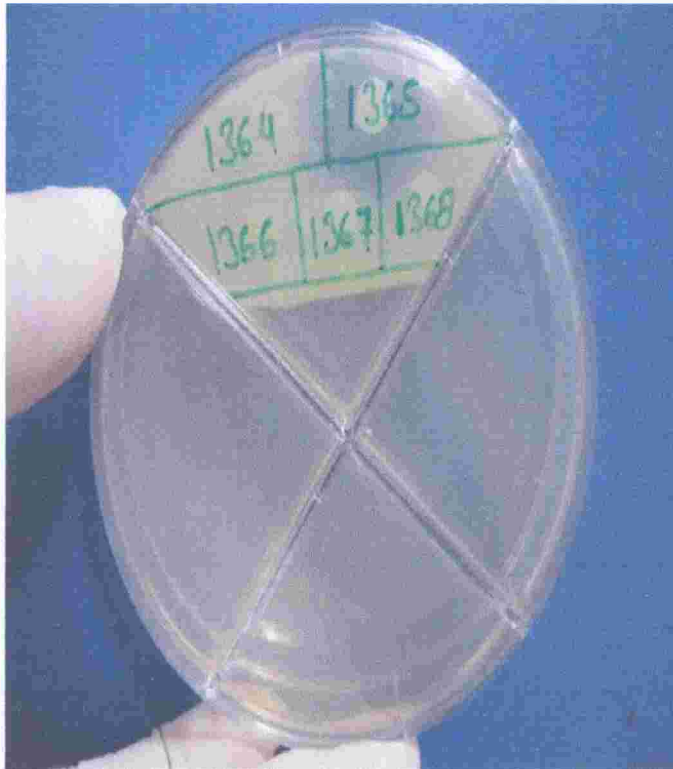


Fig. 5 Prueba de antibiótico

Anexo 13

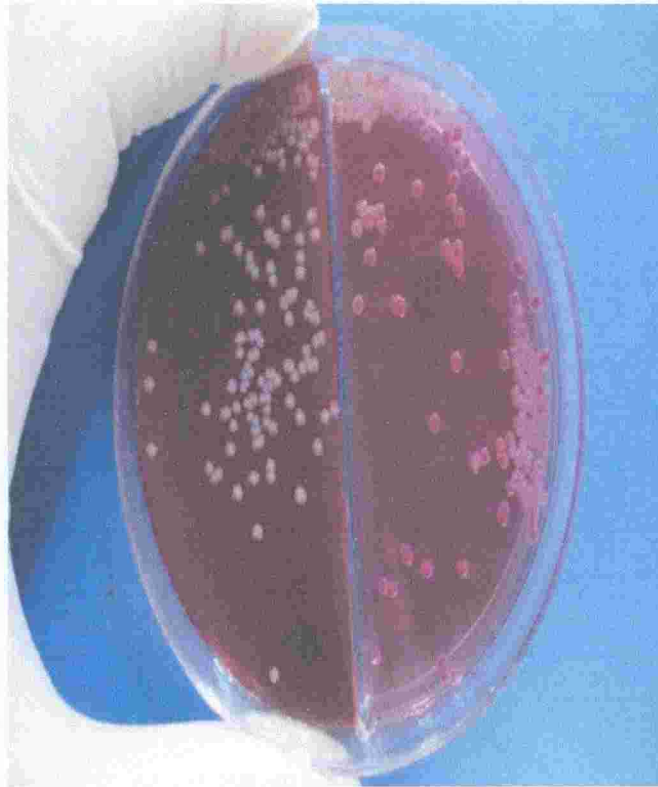


Fig. 6 Crecimiento microbiano

Anexo 14



Fig.7 Identificación bioquímica del microorganismo aislado

Anexo 15

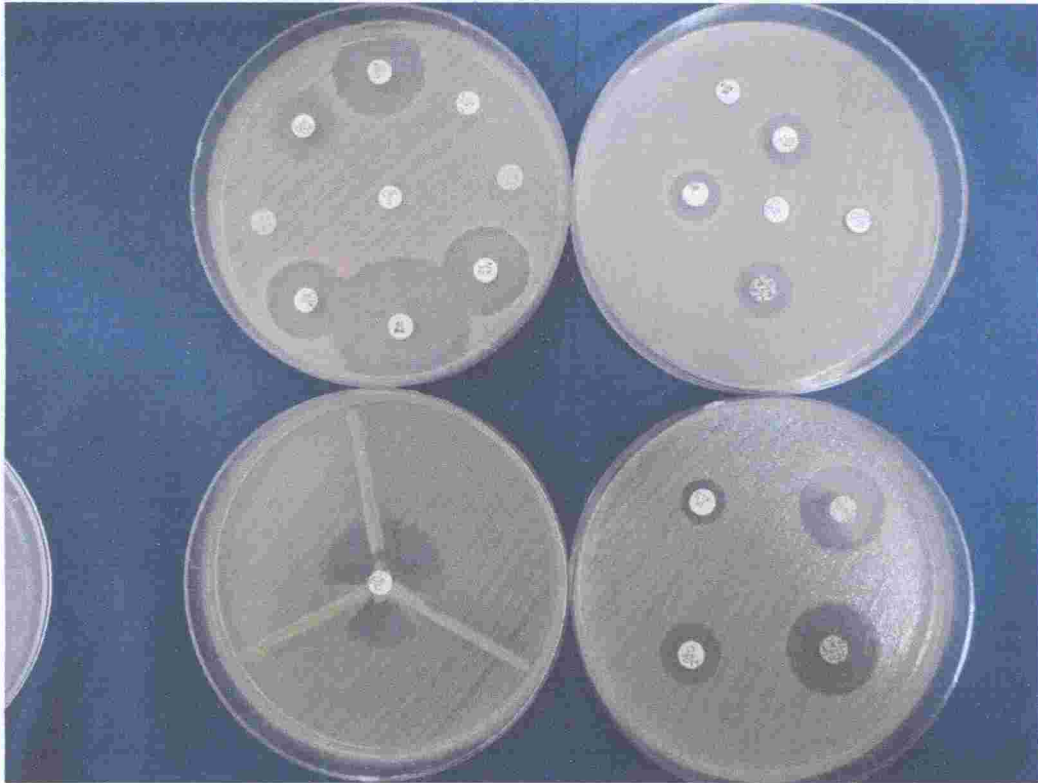


Fig. 8 Resultado del antibiograma y confirmación de β - lactamasas de espectro extendido

Anexo 16



Fig. 9 Conservación de medios de cultivo

Anexo 17



Fig. 10 Control de esterilidad interno y externo

Anexo 18



Fig. 11 tubos inclinados con medio TSI y LIA

Anexo 19



Fig. 12 Frascos codificados de cepas aisladas