



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

“Detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso”

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

CHRISTIAN SANTIAGO MAZA MARCATOMA
C.I. 0106549579
MAYRA ISABEL CLAVIJO PALTIN
C.I. 0104935382

DIRECTORA:

DRA. MARÍA DE LOURDES JERVES ANDRADE. Mgt
C.I. 0101660579

ASESORA:

DRA. CARMEN LUCÍA LÓPEZ CISNEROS
C.I. 0102173952

CUENCA – ECUADOR

2017



RESUMEN

En el presente estudio se procesaron 130 muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) internados en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del “Hospital Vicente Corral Moscoso” en el período septiembre – noviembre 2016.

El tipo de estudio fue descriptivo de corte transversal no experimental y de laboratorio; se obtuvieron 100 muestras positivas para cultivo; recuperándose *Escherichia coli* (70%) y *Klebsiella pneumoniae* (6%) dichas cepas fueron destinados para el estudio de producción de carbapenemasas. El 24% restante correspondieron a bacterias no consideradas en la investigación.

Se llevaron a cabo pruebas presuntivas según el método de difusión en agar empleando la técnica de Kirby Bauer y confirmatorias utilizando el método modificado de Hogde según el Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2016.

Para la prueba presuntiva se emplearon los discos de imipenem y meropenem mediante la diferencia del diámetro de los halos de inhibición; para la prueba confirmatoria se utilizó meropenem.

Teniendo como resultado una prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas del 5,27 % que corresponden a 4 cepas de las 6 aisladas; de las muestras procesadas las cepas de *Escherichia coli* no evidencian la presencia de estas enzimas.

Palabras claves: Infección del tracto urinario, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemasas.



ABSTRACT

In the present study, 130 urine samples from patients with urinary tract infection (UTI) were processed in the areas of Clinic, Surgery and Gynecology of the " Vicente Corral Moscoso Hospital " in the period September - November 2016.

The type of study was non-experimental and laboratory cross-sectional descriptive; 100 positive samples were obtained for culture; *Escherichia coli* (70%) and *Klebsiella pneumoniae* (6%) were recovered. These strains were used for the study of carbapenemase production. The remaining 24% corresponded to bacteria not considered in the research.

Presumptive tests were performed according to the agar diffusion method using the Kirby Bauer technique and confirmatory using the Hogde modified method according to the Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2016.

For the presumptive test the imipenem and meropenem discs were used by the difference of the diameter of the inhibition halos; Meropenem was used for the confirmatory test.

As a result, a prevalence of *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemias of 5.27% corresponding to 4 strains of the 6 isolates; Of the samples processed *Escherichia coli* strains do not evidence the presence of these enzymes.

Key words: Urinary tract infection, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemase.



ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
CLÁUSULA DE DERECHOS AUTOR	8
CLÁUSULA DE DERECHOS AUTOR	9
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	10
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	11
AGRADECIMIENTOS	12
DEDICATORIA.....	13
AGRADECIMIENTOS	14
DEDICATORIA.....	15
INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO 1	19
MARCO TEÓRICO.....	19
1.1 ENTEROBACTERIAS	19
1.1.1 Características generales.....	19
1.1.2 Estructura antigénica.....	20
1.1.3 Patogenia	20
1.1.4 Factores determinantes de patogenicidad	21
1.1.5 Epidemiología.....	21
1.2 <i>Escherichia coli</i>	22
1.2.1 Morfología	22
1.2.2 Características antigénicas.....	22
1.2.3 Virulencia	23
1.2.4 Patogenia	23
1.2.5 Patología	24
1.2.6 Epidemiología.....	27
1.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	28
1.3.1 Morfología	28
1.3.2 Características antigénicas.....	28
1.3.3 Virulencia	28
1.3.4 Patogenia	29
1.3.5 Patología	30
1.3.6 Epidemiología.....	31



1.4 MUESTRA DE ORINA.....	31
1.4.1 Características de orina normal.....	31
1.4.2 UROCULTIVO.....	32
1.5 RESISTENCIA BACTERIANA.....	33
1.6 CARBAPENEMS.....	34
1.6.1 Mecanismos de los microorganismos para inactivar a los carbapenems.....	35
1.6.1.1 Alteración en la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias Gram negativas.....	35
1.6.2 Tratamiento antimicrobiano de las infecciones por bacterias multirresistentes ...	37
CAPÍTULO 2.....	39
2.1 METODOLOGÍA.....	39
2.1.1 TIPO DE ESTUDIO.....	39
2.1.2 POBLACIÓN, MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	39
2.1.2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	39
2.1.2.2 MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	39
2.1.2.3 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	39
2.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	40
2.1.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	40
2.1.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	40
2.1.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	41
2.1.5 ASPECTOS ÉTICOS.....	42
2.1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
2.2 EQUIPOS, MEDIOS-REACTIVOS Y MATERIALES.....	44
2.2.1 EQUIPOS.....	44
2.2.2 MEDIOS Y REACTIVOS.....	44
2.2.3 MATERIALES.....	44
2.3 TÉCNICAS.....	45
2.3.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.....	45
2.3.2 TINCIÓN DE GRAM.....	47
2.3.3 AGAR SANGRE.....	48
2.3.4 AGAR CLED.....	48
2.3.5 AGAR EMB.....	49
2.3.6 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN.....	49
2.3.7 PRUEBA DE OXIDASA.....	53



2.4 PRUEBA DE SENSIBILIDAD EN DISCO	54
2.4.1 PRUEBAS PARA CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS.....	54
2.4.2 TEST MODIFICADO DE HOGDE (MHT) CONFIRMATORIO POR SUPUESTOS CASOS DE PRODUCCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS	55
CAPÍTULO 3	56
RESULTADOS Y DISCUSIONES	56
Tabla 1: Prevalencia de microorganismos causantes de infección del tracto urinario en pacientes de las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.	56
Tabla 2: Prevalencia de ITU según el rango de edad de los pacientes en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.	57
Tabla 3: Prevalencia de ITU según el género de pacientes hospitalizados en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.	58
Tabla 4: Prevalencia de ITU según las áreas de hospitalización: Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre- noviembre del 2016.....	59
Tabla 5: Prevalencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de carbapenemasas en muestras de orina de pacientes con ITU del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016. ..	60
Tabla 6: Prevalencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de carbapenemasas según rango de edad de los pacientes con ITU del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016. ..	61
Tabla 7: Prevalencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de carbapenemasas de acuerdo al género de los pacientes con ITU del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016. ..	62
Tabla 8: Prevalencia cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de carbapenemasas de pacientes con ITU de acuerdo al área de hospitalización: Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCN de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.	63
CONCLUSIONES	65
RECOMENDACIONES	66
BIBLIOGRAFÍA	67
ANEXOS.....	76
ANEXO 1: CRITERIOS DE CALIDAD PARA UROCULTIVO	75
ANEXO 2: ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO	76
ANEXO 3.- SIEMBRA EN AGAR SANGRE Y EMB.....	77



ANEXO 4.- SIEMBRA EN AGAR CLED	77
ANEXO 5.- PRUEBAS BIOQUÍMICAS	78
ILUSTRACIONES	83
Ilustración 1: Recipiente utilizado en el transporte de muestras	83
Ilustración 2: Colonias de <i>Escherichia coli</i> en Agar Sangre y EMB.....	83
Ilustración 3: Colonias de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en Agar Sangre y EMB.....	83
Ilustración 4: Recuento de colonias en agar CLED mayor a 100.000 UFC/ml	84
Ilustración 5: Prueba de Oxidasa Positiva (Azul) y Negativa (sin color)	84
Ilustración 6: Pruebas Bioquímicas para <i>Escherichia coli</i>	84
Ilustración 7: Pruebas Bioquímicas para <i>Klebsiella pneumoniae</i>	85
Ilustración 8: Pruebas de Rojo de Metilo positiva para <i>Escherichia coli</i> (Roja) y negativa para <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Amarilla).....	85
Ilustración 9: Prueba de Indol positivo para <i>Escherichia coli</i> (Anillo rosado), Indol negativo para <i>Klebsiella pneumoniae</i> (sin color)	85
Ilustración 10: Prueba presuntiva de carbapenemasas positiva	86
Ilustración 11: Cepas utilizadas para la prueba confirmatoria de carbapenemasas	86
Ilustración 12: Prueba confirmatoria de carbapenemasas positiva	86



CLÁUSULA DE DERECHOS AUTOR

CHRISTIAN SANTIAGO MAZA MARCATOMA, autor del trabajo de titulación “Detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 25 de enero del 2017

Christian Santiago Maza Marcatoma
C.I: 0106549579

CLÁUSULA DE DERECHOS AUTOR

MAYRA ISABEL CLAVIJO PALTIN, autora del trabajo de titulación “*Detección de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso*”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora

Cuenca, 25 de enero del 2017



Mayra Isabel Clavijo Paltin

C.I: 0104935382



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

CHRISTIAN SANTIAGO MAZA MARCATOMA, autor del trabajo de titulación “Detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de enero del 2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'C. Maza Marcatoma', positioned above a horizontal line.

Christian Santiago Maza Marcatoma
C.I: 0106549579



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

MAYRA ISABEL CLAVIJO PALTIN, autora del trabajo de titulación "**Detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario del Hospital Vicente Corral Moscoso**", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 25 de enero del 2017

Mayra Isabel Clavijo Paltín

C.I: 0104935382



AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta investigación agradezco a Dios por haberme dado la vida y guiarme a lo largo de toda la carrera.

Agradezco de manera especial a nuestra directora de tesis Dra. Lourdes Jerves, por su amabilidad, su paciencia, su conocimiento científico y por orientarnos durante todo el desarrollo de esta investigación.

De igual manera un sincero agradecimiento a la Dra. Carmen Lucía López por su gran apoyo y conocimiento en la parte práctica.

Al personal de Docencia y laboratorio del Hospital Vicente Corral Moscoso por abrirnos las puertas para poder realizar el presente estudio.

A mis amigos José y Edwin quienes estuvieron apoyándome en la parte práctica del presente estudio.

Christian



DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios por ser quien ha guiado mi camino hasta conseguir esta meta dándome las fuerzas necesarias para salir adelante.

Mi agradecimiento más profundo a mis padres Vicente y Yolanda, ya que gracias a ellos pude seguir adelante con mis estudios y me han apoyado durante toda mi vida con su amor de manera incondicional.

Una dedicatoria muy especial a mi hijo quien me enseñó a nunca darme por vencido a pesar de todas las dificultades que se presenten en el camino, así como también a mi novia Gabriela quien durante todo este tiempo estuvo apoyándome y por haberme regalado la mayor felicidad de este mundo con mi pequeño Alexandre.

De igual manera a mis hermanos quienes han visto en mi un ejemplo a seguir y espero que sigan adelante con todas sus metas y propósitos.

Christian



AGRADECIMIENTOS

A Dios por mantener esta lucha insaciable junto a mí y de vivir cada momento a mi lado.

Con todo mi cariño y amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, por siempre mi corazón y mi agradecimiento a ustedes papá y mamá.

Como un padre siempre te he visto y como una madre también, gracias a su sabiduría influyeron en mí la madurez para lograr todos los objetivos en la vida. Gracias amados abuelos

Un agradecimiento especial a mi directora de tesis Dra. Lourdes Jerves por su paciencia ante mi inconsistencia quien me ha orientado, apoyado y corregido en mi labor científica, por su valiosa dirección y apoyo para seguir este camino de tesis y llegar a la conclusión del mismo, cuya experiencia y educación ha sido mi fuente de motivación y de curiosidad durante estos años.

A mis mejores amigas, Maritza, Verónica, Tania, Mayra, Jessica. Por ser como son, apoyar todas mis locuras y estar conmigo en cada momento, en especial a ti Mary que has llegado a mi vida como una mano derecha. A mi gran amigo Christian por ser el compañero de la vida universitaria gracias por apoyarme siempre. Por todo aquello maravilloso que hemos vivido nunca me cansaré de agradecerle a Dios por haberlos puesto en mi camino infinitas gracias.

Y gracias a todas las personas que directa o indirectamente hicieron posible este proyecto y por la gran calidad humana que me han demostrado con su amistad.

Mayra

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.

Thomas Chalmers



DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, por estar conmigo a cada momento de mi vida quién supo guiarme y al mismo tiempo darme fuerza para seguir adelante, por darme la fortaleza para continuar a pesar de las adversidades sin que perdiera nunca la dignidad ni desfallecer en el intento, con toda humildad que expresa mi corazón a ti DIOS.

A mi padre, por ser el cimiento para la construcción de mi vida profesional que sentó en mi la base de responsabilidad y deseo de superación, en el tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarlo cada día más.

A mi madre por ser lo mejor de mi vida, por ser la inspiración de todo lo que hago, por su tenacidad y lucha insaciable.

A mis hermanos Gustavo, Cristina, Gabriel como si nunca hubiéramos estado en paz, siempre batallando por cualquier cuestión, gracias no solo por estar presentes aportando buenas cosas a mi vida, sino por los grandes lotes de felicidad y de diversas emociones que siempre me han causado son lo mejor del mundo gracias por su paciencia, comprensión, bondad y sacrificio, me inspiraron a ser mejor, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ustedes, gracias por estar siempre a mi lado.

Mayra



INTRODUCCIÓN

La emergencia y la diseminación de Enterobacterias productoras de carbapenemasas, como paradigma actual han generado una resistencia extensa en nuestro ámbito sanitario convirtiéndose en una grave amenaza para la salud de los pacientes y para la salud pública.

Las Enterobacterias son los principales microorganismos causantes de enfermedades infecciosas en el ser humano, debido a que son habitantes de la flora intestinal y se encuentran entre los patógenos humanos más comunes, causando infecciones como la cistitis y la pielonefritis con fiebre, septicemia, neumonía, peritonitis, meningitis e infecciones asociadas. Representan una fuente de infecciones adquiridas en la comunidad o en el hospital, las mismas que tienden a propagarse fácilmente entre los seres humanos. (Nordmann, Nass, & Poirel, 2010)

Durante los últimos años se ha evidenciado la aparición y dispersión de Enterobacterias productoras de enzimas que confieren resistencia a todos los antibióticos B-lactámicos, incluyendo los antibióticos carbapenémicos, lo cual limita de manera importante el arsenal terapéutico frente a estas bacterias. Estas enzimas, denominadas genéricamente carbapenemasas pertenecen en su mayoría a 4 clases diferentes, según la clasificación molecular de Ambler. (Malbrán, 2014)

La resistencia a los antibióticos (RA), es una prioridad de primer orden para los enfermos, la comunidad, los profesionales sanitarios y la salud pública. En los últimos años la RA ha aumentado visiblemente hasta convertirse en una emergencia sanitaria, según todas las agencias internacionales de salud; las Enterobacterias son una de las familias bacterianas que presentan con mayor frecuencia resistencia a múltiples antibióticos. (Oteoa, Calbo, & Col, 2014)

El mecanismo de carbapenemasas es el de mayor importancia epidemiológica y clínica por ser fácilmente transmisible, conferir resistencia clínicamente significativa al estar asociado a alta mortalidad. Por lo tanto, su detección en el laboratorio es fundamental. (Calvo, Cantón, & Col, 2011)



Es por esto que es necesario la detección de pacientes infectados y portadores de bacterias productoras de carbapenemasas para la prevención de su propagación. (Gómez A. , 2011)

JUSTIFICACIÓN

La presencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad asociada a infecciones nosocomiales en el mundo, es una condición que ocurre como resultado de la resistencia que presentan ciertas bacterias a los carbapenémicos.

Las infecciones causadas por estos microorganismos resistentes ya no responden al tratamiento ordinario lo que puede generar una enfermedad prolongada, con potencial riesgo para la salud del paciente e incremento de costos en su recuperación.

El presente estudio permitió realizar un seguimiento de la presencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de carbapenemasas mediante la identificación fenotípica de las enzimas responsables de esta resistencia. Estas evidencias alimentarán bases de datos epidemiológicos para un control efectivo que beneficie a los pacientes en particular y a la sociedad en general.

HIPÓTESIS

La Prevalencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario hospitalizados en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso en el período septiembre- noviembre del 2016, será mayor o igual al 5%.



OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la prevalencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de carbapenemasas recuperadas de pacientes con infección del tracto urinario hospitalizados en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso en el período septiembre – noviembre 2016.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Recuperar las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* de las muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario internados en las áreas de hospitalización: Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso.
- Realizar los ensayos de sensibilidad para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina, empleando los diferentes antimicrobianos que recomienda la tabla CLSI 2016 e interpretar los resultados.
- Realizar el análisis estadístico sobre la presencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas presentes en las áreas de hospitalización: Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso.



CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 ENTEROBACTERIAS

1.1.1 Características generales

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo amplio y heterogéneo de bacilos Gram negativos que residen en el colon del hombre sin causar enfermedad, aunque son responsables de un número considerable de infecciones en pacientes con inmunidad conservada como en inmunodeprimidos ya que en los pacientes hospitalizados las Enterobacterias colonizan el tubo digestivo, la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel mientras que en el ambiente hospitalario pueden aislarse del agua, catéteres, sondas, sueros, antisépticos, equipos de respiración mecánica. (Rocchi & Gasparotto, 2007)

Dentro de las características típicas y distintivas de las enterobacterias están:

- Son aerobias no formadoras de esporas que pueden crecer en anaerobiosis (anaerobios facultativos)
- Reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones)
- Fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella
- Son oxidasa-negativa, a excepción de *Plesiomonas*
- Producen catalasa
- No ven favorecido su crecimiento por la presencia de NaCl
- La mayoría son móviles (con flagelos peritricos)

Escherichia coli (*E. coli*), es el microorganismo más prevalente de esta familia, es una de las bacterias prototípicas sometidas a estudio. (Puerta & Mateos, 2010)

El principal mecanismo de transmisión de estos microorganismos se produce a través de las manos del personal sanitario, que se coloniza cuando entra en contacto con pacientes que a su vez están infectados. (Farinas & Martínez, 2013)



1.1.2 Estructura antigénica

Antígeno O (somático): forma parte de un Lipopolisacárido (LPS) que se encuentra ubicado en la pared celular en cada célula bacteriana

Antígeno K (capsular): está presente únicamente en bacterias capsuladas como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Antígeno Vi: polisacárido que rodea a la bacteria sin llegar a ser una cápsula, es característico de ciertas especies de *Salmonella*.

Antígeno H: proteico y flagelar, presente sólo en las especies móviles.

Antígeno F (fimbrial): está presente en las fimbrias y son de naturaleza proteica.

Estos tres tipos de antígenos de superficie sirven para serotipar e identificar a las enterobacterias; cada uno de ellos determina la patogenicidad de una cepa. (Romero Cabello, 2007)

1.1.3 Patogenia

Se caracterizan desde el punto de vista microbiológico por ser bacterias no esporuladas con crecimiento en aerobiosis y anaerobiosis, reducen los nitratos a nitritos salvo algunas excepciones; fermentan la glucosa con o sin formación de gas, muestran negatividad a la prueba de la oxidasa, no aumenta su crecimiento en un medio hipertónico y pueden ser móviles dependiendo de la presencia o no de flagelos peritricos, o inmóviles. Son organismos Gram negativos que poseen una membrana interna (citoplasmática), una cubierta de peptidoglicano que la rodea, y una compleja membrana externa; pueden o no tener cápsula. (Galí Navarro, 2010)



1.1.4 Factores determinantes de patogenicidad

- **Endotoxina:** el lípido A, que es una macromolécula compleja que contiene fosfolípidos y lipopolisacáridos (LPS). Es constituyente de la pared bacteriana y sólo se liberan cuando la célula muere y se lisa.
- **Exotoxinas:** casi todas son productos que funcionan como enterotoxinas y pueden ser termolábiles o termoestables.
- **Cápsula:** es especialmente útil para la bacteria como una fase protectora que hace más difícil la fagocitosis y con ello le da una mayor sobrevivencia a la bacteria.
- **Variación antigénica:** consiste en variar sus antígenos y con ello mostrar diferente presencia inmune para la identificación y respuesta del huésped.
- **Factores de adherencia:** las fimbrias colaboran para la adherencia de la bacteria a la superficie mucosa del huésped, así como otro factor importante es la adhesina.
- **Bacteriocinas:** son sustancias bactericidas, principalmente la colicina y marcescina. (Hernández, 2010)

1.1.5 Epidemiología

En los individuos hospitalizados o inmunodeprimidos (incluyendo los pacientes alcohólicos y diabéticos), en especial en los pacientes que reciben tratamiento antibiótico, hay colonización por miembros de la familia *Enterobacteriaceae* en el tubo digestivo, la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel; la infección por estas bacterias es frecuente en estos contextos. La proporción de aislados resistentes a múltiples antimicrobianos, incluidos aquellos que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE), ha aumentado de forma ininterrumpida, de modo que casi todos los aislados nosocomiales, y muchos de los aislados adquiridos en la comunidad son ahora resistentes a varias clases importantes de antimicrobianos. Diferentes factores han contribuido al incremento de las infecciones por enterobacterias en nuestros hospitales: el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravenosos, endoscopias, intervenciones), el empleo de potentes inmunosupresores y las estancias hospitalarias prolongadas, entre otros. (Puerta & Mateos, 2010)



Estos microorganismos también pueden transmitirse de un paciente a otro y esas infecciones a menudo dependen del estado de inmunidad de un paciente hospitalizado y se adquieren generalmente en una casa de salud. Aunque no sea siempre el caso como: *E.coli* es la causa más frecuente de infecciones nosocomiales, también es la causa principal de infecciones urinarias en personas no hospitalizadas. Otras especies como las de Salmonella, las especies de Shigella y Yersinia enterocolitica, sólo habitan en el intestino cuando causan infección y se adquiere por la ingestión de alimentos o agua contaminados. Este también es el modo de transmisión de los diversos tipos de *E. coli* que causan infecciones gastrointestinales. (León & Vasquez, 2013)

1.2 Escherichia coli

1.2.1 Morfología

Escherichia coli pertenece a un grupo de bacterias presentes en el intestino del ser humano y animales. Se presenta en forma de bacilos, su tamaño promedio es de 0.5μ de ancho por 3μ de largo, cuando se utiliza la tinción de Gram se tiñen de color rojo o rosado (gramnegativas). La mayoría de cepas son móviles (por flagelos peritricos), no esporuladas, fermenta la glucosa y la lactosa. Son catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos; producen vitamina B y K. (Elika, 2013) (Molina, 2015)

1.2.2 Características antigénicas

Se pueden diferenciar serológicamente en relación a los antígenos:

- Antígenos somáticos (O): Son cadenas polisacáridas unidas al complejo LPS característico de las bacterias gram negativas, con 167 variantes.
- Antígenos flagelares (H): Son de naturaleza proteica. Esta proteína que constituye los flagelos es denominada flagelina. El contenido de aminoácidos y el orden en que estos se encuentran en las flagelinas determina la especificidad de los diversos antígenos, presenta 75 variantes. Este antígeno es termolábil.



- Antígenos capsulares (K): Son externos a los antígenos O; algunos constituyen una verdadera cápsula visible por los que se los denomina antígenos de envoltura por comportarse como si envolvieran la bacteria. Son de naturaleza polisacáridica, con 102 variantes.
- Antígeno (F) fimbrias/pilis: desempeñan un papel en la patogenia, con 12 variantes.

Los antígenos se utilizan para la biotipificación y son importantes como referencia inmunológica. (León & Vasquez, 2013)

1.2.3 Virulencia

Las principales características de virulencia están dadas por:

- Fimbrias: pueden actuar por su capacidad de adherencia en células intestinales, ya sea adherencia localizada, agregativa o difusa.
- Antígenos O y K: presentan propiedades antifagocitarias e inhibitorias de las sustancias bactericidas del suero, estas son responsables de la virulencia de las cepas invasivas.
- Endotoxina: ligada al lipopolisacárido, responsable de la acción pirógena.
- Exotoxinas: responsables de la producción de diarreas y su síntesis está codificada por la presencia de plásmidos trasmisibles. (Ortiz & Méndez, 2013)

1.2.4 Patogenia

E.coli puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas que producen infecciones en las vías urinarias, en el tracto respiratorio, en el sistema nervioso central y otras infecciones ya sea generalizadas (bacteriemias o sepsis), o en



diversas ubicaciones (articulaciones, globos oculares, glándulas, peritoneo, hígado, hueso, cerebro, corazón, próstata, venas y otros).

Existen cinco tipos de *E.coli* que se caracterizan por tener su propio mecanismo de patogenicidad, entre las cuales tenemos: *E.coli* enteropatógena, enterotóxica, enteroinvasiva, enterohemorrágica y enteroagregativa, de los cuales las más importantes son las tres primeras citadas. (Ardila Medina, 2010)

Todos estos tipos, comparten diversos factores de virulencia. Así, ciertos antígenos O actúan como factores de adhesión/colonización necesarios para la producción de infección, otros actúan como factores de colonización y como toxinas. Los antígenos H son proteínas encontradas en los flagelos de estas bacterias y están ligados a la producción del síndrome hemolítico urémico y podrían ser responsables de la capacidad de progresión de las enterobacterias a través de las vías urinarias. Por último, los antígenos K son polisacáridos ácidos situados en la superficie celular; algunos de ellos como el antígeno capsular K1 de *E. coli* se asocian con el desarrollo de meningitis neonatal, bacteriemia e infección urinaria.

Aunque la mayoría de las cepas de *E.coli* no son patógenas dependiendo del sitio anatómico, pueden ser patógenos oportunistas causando infecciones en el hospedador inmunocomprometido. (Biotaetscientia, 2011)

1.2.5 Patología

Infecciones urinarias. - Las infecciones urinarias por *E. coli* están causadas en su mayor parte por cepas de determinados serotipos llamados uropatógenos, estos principalmente ingresan al organismo a través de:

- La vía ascendente la más frecuente, permite el paso de bacterias desde las márgenes del ano y periné a la uretra y a la vejiga para luego ascender por las paredes de los uréteres hasta los riñones.
- La vía sanguínea ocurre en las septicemias que comprometen a los riñones.
- La vía linfática pasan las bacterias desde el intestino a las vías urinarias. (Amasifuen & Ruíz, 2012)



Para colonizar el tracto urinario la bacteria expresa fimbrias de adhesión que facilitan su fijación al uroepitelio; una vez unida la bacteria al uroepitelio, las células epiteliales son capaces de internalizar la bacteria por un proceso similar a la fagocitosis.

La infección del tracto urinario es clasificada según el sitio de proliferación de la bacteria:

- La Bacteriuria Asintomática (BA): se define como la colonización de bacterias en el tracto urinario con más de 100000 UFC/ml en una sola muestra de chorro medio de orina, en ausencia de síntomas específicos.
- Cistitis: es una inflamación de la vejiga muy sintomática en la mayor parte de los casos, dado que la vejiga se continúa a través de la uretra; ésta también se puede presentar inflamada (uretritis) y participar en la sintomatología de la enfermedad.

Cuando se habla de cistitis hemorrágica se hace referencia a infecciones, por lo general severas, que ocasionan sangrado vesical y hematuria; ésta se presenta en casos de infección por *E. coli* que presenta como principal factor de virulencia endotoxinas.

- Pielonefritis: es la infección de la vía excretora alta y del parénquima renal de uno o ambos riñones, se conoce que durante una pielonefritis aguda existe una respuesta sistémica de anticuerpos. Los anticuerpos IgM aparecen en la primera ITU alta pero no en las recurrentes; se ha establecido que los niveles elevados de anticuerpos IgG contra el lípido A se asocian con la gravedad de la infección y la progresión de la destrucción del parénquima renal.

Las manifestaciones clínicas en caso de una cistitis son polaquiuria, disuria y febrícula; mientras que en caso de pielonefritis aparece fiebre alta, dolor lumbar y afectación del estado general. (Paucarima, 2013) (Meza, 2012)



Infecciones intestinales. - Las infecciones causadas por *E. Coli* pueden ser debidas a la combinación de diferentes determinantes de patogenicidad, dando lugar a varias modalidades patogénicas como son: (Rodríguez, 2002)

- *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP): Se la conoce por la capacidad de producir cuadros diarreicos en lactantes, particularmente en países en desarrollo; este tipo de cepas se identifican mediante la tipificación del antígeno O y en ocasiones del antígeno H. (Molina, 2015)
- *Escherichia coli* enterotóxica (ECET): causa la común diarrea del viajero, ésta se adhiere al intestino delgado mediante antígenos del factor de colonización y produce enterotoxinas semejantes a la toxina producida por el *Vibrio cholerae*. (Lopardo & Predari, 2016)
- *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI): produce un cuadro clínico semejante a la disentería bacilar caracterizada por su capacidad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal, sobretodo en la mucosa del colon. (Canet, 2016)
- *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH): produce una o más toxinas denominadas shiga o verotoxinas, semejantes a la toxina shiga producida por *Shigella dysenteriae*. Se desconoce la patogenia de la enfermedad, pero puede implicar efectos directos de las toxinas sobre células epiteliales y endoteliales, o quizá está mediada por la respuesta inflamatoria del huésped. (FAO, 2011)
- *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA): caracterizada por su adherencia a la mucosa intestinal y favorecen la secreción de moco, atrapando a las bacterias en la película mucosa. Es causante de diarrea aguda y crónica en países en vías de desarrollo, y en países industrializados produce enfermedades por alimentos contaminados. (Lopardo & Predari, 2016)



1.2.6 Epidemiología

La distribución de *E. coli* es universal, es la principal causa de infección de las vías urinarias adquiridas en la comunidad y nosocomial. Hasta un 50% de las mujeres experimenta al menos un episodio de infección del tracto urinario. *E. coli* provoca del 12-50% de las infecciones nosocomiales y el 4% de los casos de enfermedades diarreicas.

En los países desarrollados se ha observado una importante disminución en la frecuencia de infecciones, las probables razones de esta disminución se incluyen debido un mejor control de las infecciones hospitalarias y adecuadas medidas de saneamiento; debido a que es evidente que *E.coli* puede ser transmitido por la ingestión de agua y alimentos contaminados.

Los sistemas de vigilancia varían enormemente entre países, por lo tanto, las comparaciones de la incidencia de las enfermedades asociadas a *E.coli* deben realizarse cuidadosamente. (Lopardo & Predari, 2016)

La infección urinaria es más común en mujeres que en hombres debido a las diferencias en la estructura anatómica y cambios durante la maduración sexual, el embarazo, y el parto. (Lopardo & Predari, 2016)

En efecto, las estadísticas muestran que las infecciones en vías urinarias afectan al 20% de las mujeres de entre 20 y 50 años, y sólo al 0.1% de los varones en idéntico rango de edad, pero también dejan claro que el género masculino presenta incremento considerable en la incidencia de éstas a partir de la quinta década de vida, debido a que su proceso de envejecimiento se acompaña de circunstancias que dificultan el tránsito de orina y favorecen la reproducción de microorganismos. (Pilapanta, 2015)

El factor de riesgo más importante es el haber tenido relaciones sexuales recientes, otros factores de riesgo son el uso de espermicidas o de diafragma, así como factores genéticos. (Pigrau, 2013)



1.3 *Klebsiella pneumoniae*

1.3.1 Morfología

Es un patógeno oportunista que se presenta en forma de bacilos rectos gram negativo inmóviles encapsulados, anaerobia facultativa y miden aproximadamente 0,3-1,0 μm de diámetro y 0,6-6,0 μm de longitud, es fermentador de glucosa y lactosa, se puede observar en el agar Mac Conkey donde las colonias son de color rosado y en el medio Kligler la producción de gas. Es colonizador de piel y mucosas de pacientes hospitalizados que pueden presentar infecciones invasoras como bacteriemias o septicemias, también pueden encontrarse en pacientes incluso tratados con antibióticos de amplio espectro. Usualmente las manos contaminadas del personal son el vehículo responsable de brotes epidémicos (Andrade, 2003) (Minguito Parra, 2015)

1.3.2 Características antigénicas

Algunas de las estructuras descritas constituyen determinantes antigénicos que se emplean tanto en clasificación como en epidemiología. Entre ellas cabe destacar:

- El antígeno capsular K
- El antígeno somático O (LPS) y
- Las fimbrias.

El antígeno capsular K, estable al calor, es el más empleado para el tipado serológico ya que es mayor el número de tipos existentes (entre 75 y 82) con relación al antígeno O (cinco) y presenta menos dificultades técnicas. (Paciel, Seija, & Priet, 2011)

1.3.3 Virulencia

Los factores de virulencia identificados en *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*) son:

- El lipopolisacárido de la superficie celular (LPS) que contiene el antígeno O
- El polisacárido capsular (CPS) que contiene el antígeno K
- Las adhesinas fimbriales y no fimbriales
- La producción de aerobactina, el fenotipo mucoide y la resistencia a la actividad bactericida del suero.
- También se ha descrito la producción de citotoxinas, enterotoxinas y hemolisinas, con menor relevancia. (Minguito Parra, 2015)



La cápsula polisacárida es el factor de virulencia más importante que protege a la bacteria de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y previene su muerte por los factores séricos. Los serotipos K2, K4 y K5 se asocian con la neumonía adquirida en la comunidad.

En la adherencia de *Klebsiella spp.* a las células del hospedero intervienen los pilis, con predominio de los tipos 1 y 3. El tipo 1 está asociado a las infecciones del tracto urinario y el tipo 3 interviene a la adherencia a los epitelios del tracto respiratorio y urinario.

Otro factor de virulencia es un plásmido de 180 kDa que codifica para la aerobactina, cuya función es captar el hierro del hospedero, elemento vital para el desarrollo de *Klebsiella spp.* (Paciel, Seija, & Priet, 2011) (Lopardo & Predari, 2016)

1.3.4 Patogenia

Klebsiella pneumoniae es fundamentalmente un microorganismo nosocomial, que con frecuencia origina brotes hospitalarios, lo que determina su importancia epidemiológica. La principal vía de transmisión es a través del contacto con las manos del personal sanitario, al igual que otras bacterias. La colonización ocurre principalmente en el tracto digestivo, aunque otros lugares como la nasofaringe, el tracto respiratorio y el tracto urinario también han sido descritos. Su determinante principal de virulencia es el polisacárido capsular ácido.

Una vez que el paciente está colonizado, puede ser portador durante largos periodos de tiempo (desde unas semanas hasta meses), constituyendo una importante fuente de reservorio. Sin embargo, el reservorio humano no es el único reservorio ya que también puede encontrarse transitoriamente en el ambiente inanimado que rodea a los pacientes infectados o colonizados. (Minguito Parra, 2015)

El estado de portador orofaríngeo se asocia a una alteración de las defensas en los alcohólicos. La bacteria accede al interior del organismo tras la aspiración hacia el pulmón, éstos se adhieren a las células diana del tracto respiratorio inferior a través del efecto de intermediación de múltiples adhesinas, las cuales están mediadas por distintos tipos de fimbrias localizadas en la superficie bacteriana.



La defensa del huésped frente a la invasión bacteriana depende de la fagocitosis realizada por los macrófagos y los polimorfonucleares, así como del efecto bactericida del suero mediado en gran medida por las proteínas del complemento. (Swapan & Revankar, 2007)

1.3.5 Patología

Las especies pertenecientes a *Klebsiella* se encuentran especialmente en los tractos respiratorio, intestinal y urogenital. Las enfermedades causadas por *Klebsiella*, incluyen la neumonía (una enfermedad inflamatoria de los pulmones), infecciones del tracto urinario (ITU), la espondilitis anquilosante (artritis inflamatoria degenerativa), septicemia (inflamación del cuerpo entero).

Normalmente afecta a las personas con el sistema inmunológico bajo, como a los pacientes hospitalizados, pacientes diabéticos y personas con enfermedades pulmonares crónicas. También, las personas que se entregan al consumo excesivo de alcohol, son las más propensas a las infecciones de *K. pneumoniae*, que otras. (Cordova, 2013)

Neumonía: los varones alcohólicos de más de 40 años o con enfermedades de base: EPOC, diabetes son los más afectados, tienen un curso agudo y grave con alteraciones destructivas del pulmón. La principal manifestación clínica que presentan es esputo en "gelatina de grosella" esto es debido a la inflamación necrotizante y a la naturaleza hemorrágica del proceso. (Cajas & Cobos, 2015)

Infección urinaria: presente principalmente en pacientes diabéticos o tratados con antibioterapia. El microorganismo causa infección del tracto urinario cuando se introduce por contigüidad en la región traída por la materia fecal que lo contiene.

Además, pueden infectar el tracto digestivo, causando diarrea. Se estima que el 20% de los casos de diarrea en bebés está causada por *Klebsiella pneumoniae*. (Bell, 2014)



1.3.6 Epidemiología

K. pneumoniae no fue considerada tradicionalmente como una especie patógena para el hombre. Sin embargo, debido al incremento del uso de antibióticos y al empleo de procedimientos diagnósticos más agresivos, en los últimos años su papel como agente etiológico responsable de patología inespecífica ha ido en aumento, sobre todo de origen nosocomial representando una proporción muy significativa también de las infecciones del tracto urinario, respiratorio, septicemias e infecciones de tejidos blandos. (Paciel, Seija, & Priet, 2011)

Los microorganismos más frecuentemente aislados de pacientes con infecciones intrahospitalarias son *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, sin embargo, *Klebsiella pneumoniae* ha cobrado gran importancia en los últimos años debido a su gran incremento como agente causal de este tipo de infecciones de difícil tratamiento; existe un claro aumento en la prevalencia de *K. pneumoniae* resistente con una tasa de mortalidad de 27,3%. (Echeverri & Cataño, 2014)

Recientemente se ha demostrado que los pacientes colonizados por *K. pneumoniae* tienen dos a cuatro veces más infecciones asociadas al cuidado de la salud que los no colonizados. Todos estos aspectos adquieren mayor importancia porque los seres humanos podemos ser portadores de *K. pneumoniae* durante muchos años, con el riesgo de adquirir infecciones por ella y de diseminarla no solo en ambientes hospitalarios sino también en la comunidad. (Echeverri & Cataño, 2014)

1.4 MUESTRA DE ORINA

1.4.1 Características de orina normal

Examen físico. - En este proceso se observan las características macroscópicas de la muestra, en esta se encuentran:

Aspecto: Es considerado como normal un aspecto transparente.

Color: el color característico de la orina normal es amarillo o ámbar, varía por la dieta y por la concentración. Los urocromos (pigmento producido por la degradación de la bilis) y la urobilina (por degradación de la hemoglobina), dan color a la orina. En ciertas patologías como cálculos renales, se puede producir orina sanguinolenta. (Pinheiro, 2016)



Olor: adquiere un olor a amoníaco cuando reposa por un tiempo, pero por lo general es poco aromática. En los pacientes diabéticos, la orina toma un olor frutal, debido a los cuerpos cetónicos.

pH: según la dieta puede variar notablemente. Fluctúa entre 4.6 y 8.0.

Densidad: en la orina, varía de 1.001 a 1.035, cuanto más alta es la concentración de solutos, mayor es la densidad.

Examen Químico. - Contempla el estudio cualitativo o cuantitativo de algunas sustancias que pueden estar presentes en una muestra de orina y que a niveles elevados pueden ser indicadores de alguna patología.

Generalmente estos parámetros deben estar ausentes, como son: glucosa, proteínas, cetona, bilirrubina, urobilinógeno, leucocitos, hemoglobina, nitritos.

MICROSCOPIA DE SEDIMENTO

Células epiteliales — algunas
Leucocitos — hasta 5 por campo
Hematíes — hasta 3 por campo
Moco — ausente
Bacterias — ausentes
Cristales — ausentes
Cilindros — ausentes (Pinheiro, 2016)

1.4.2 UROCULTIVO

El cultivo de orina o urocultivo es la prueba confirmatoria para determinar una infección urinaria desde el punto de vista microbiológico. La colocación de una cantidad de orina en una placa superficial directa descartable principalmente con agar sangre y Eosin Methylene Blue (EMB) Agar nos permitirá aislar tanto bacterias gram positivas y negativas como *E. coli*.

Un recuento bacteriano mayor o igual a 10^5 UFC/ml luego de 24 horas de incubación, es un indicio de infección del tracto urinario (ITU).

La recolección de muestra por la técnica de chorro medio es la más recomendada para urocultivo debido a que provee una muestra menos contaminada por células epiteliales y bacterianas.



En el caso de que el análisis no se realice en ese momento debe refrigerarse de 4 a 8 °C, inmediatamente después de recolectada ya que cuando se deja la muestra de orina al ambiente por mucho tiempo esta puede descomponerse por la presencia de bacterias: incrementa el pH, se produce amoníaco y degrada la urea; la orina es un medio de cultivo y el recuento se mantiene durante 24 horas en condiciones de refrigeración.

Para realizar un urocultivo primero se debe realizar un examen físico-químico y microscópico para tomar en cuenta ciertos parámetros. (Wein, Kavoussi, & Col, 2007)

Para el urocultivo se debe considerar:

Aspecto: Es el aspecto turbio es considerado como anormal, esto puede ser debido a presencia de leucocitos, glóbulos rojos, bacterias, cristales, etc.

Bacterias. Se presentan frecuentemente en sedimentos urinarios a causa de contaminación uretral o vaginal. Su presencia en grandes cantidades sugiere un proceso infeccioso del tracto urinario.

Nitritos: se hace positivo por el nitrato reductasa presente en las Enterobacterias. Es otra prueba rápida, pero tiene una sensibilidad de 25 % y una especificidad de 94-100 % para ITU.

Leucocito esterasa: un resultado positivo detecta la presencia de leucocitos en la orina que suele indicar que hay alguna inflamación en las vías urinarias. En general, sugiere infección urinaria. (Rodriguez & Salgado, 2014)

1.5 RESISTENCIA BACTERIANA

Las infecciones causadas por organismos resistentes a los antibióticos (ORAs) podrían llegar a ser consideradas como una infección emergente, debido a que su tratamiento es cada vez más limitado afectando a todas las personas en el mundo, tanto en países con mayores recursos económicos como en aquellos en vías de desarrollo, además prolonga la duración de las enfermedades y aumenta el riesgo de muerte. (OMS, 2014)



Se conoce que el entorno clínico constituye una fuente de resistencia a los antibióticos, debido al uso ampliamente extendido de los mismos, que produce una presión natural selectiva en las bacterias. La aparición de resistencia a los antibióticos en los países en desarrollo es una preocupación en todo el mundo, debido al uso no regulado de antibióticos en hospitales y lugares de suministro de medicamentos (farmacias, supermercados, y el mercado negro) de estos países, que va de la mano con la selección inadecuada de medicamentos, la dosificación equivocada, y la mala adherencia del paciente al tratamiento, lo que representa un escenario perfecto para el cultivo de bacterias resistentes. (Rocha, Reynolds, & Simons, 2015)

1.6 CARBAPENEMS

Los carbapenémicos son los antibióticos β -lactámicos dotados de mayor espectro, actividad y resistencia a las β -lactamasas. Son altamente potentes contra bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Estas cualidades hacen que los carbapenémicos sean imprescindibles en el tratamiento empírico donde se sospecha de un patógeno multirresistente, en la monoterapia de numerosas infecciones nosocomiales graves (incluso algunas de origen comunitario) y en la terapia dirigida contra las infecciones producidas por bacterias Gram negativas multirresistentes o productoras de β -lactamasas de amplio espectro y espectro extendido. Todos los carbapenémicos disponibles son similares en cuanto a espectro se refiere.

Mecanismo de acción. - Inhiben la síntesis de la pared bacteriana, los carbapenémicos al igual que los demás β -lactámicos muestran una elevada afinidad por las diferentes enzimas que participan en el ensamblaje del peptidoglicano, estructura esencial en la pared celular de las bacterias. Estas enzimas se denominan como PBPs (penicillin binding protein, por sus siglas en inglés) y según su función se clasifican en transglicosilasas, transpeptidasas y carboxipeptidasas. Cada antibiótico β -lactámico presenta una afinidad diferente por cada PBP; se conoce que en bacterias Gram negativas los carbapenémicos muestran una elevada afinidad por PBPs de alto peso molecular y la diferencia de esta afinidad es lo que determina la capacidad antimicrobiana de cada carbapenémico.



Para que el carbapenémico pueda ejercer su función debe llegar a su sitio blanco. En el caso de las bacterias Gram positivas las cuales no presentan membrana externa es fácil; sin embargo, en las bacterias Gram negativas debe primero atravesar la membrana externa a través de porinas inespecíficas denominadas OMS (outer membrane protein, por sus siglas en inglés). Una vez en el sitio son capaces de inhibir la síntesis de la pared celular durante la transpeptidación, ya que al unirse a residuos de serina que forman parte de las PBPs impiden que la pared bacteriana se ensamble adecuadamente dando como resultado el debilitamiento de ésta y en última instancia la lisis de la célula bacteriana. Su capacidad antimicrobiana depende de la estructura y tiempo de acción de cada carbapenémico. (Rocha, Reynolds, & Simons, 2015)

1.6.1 Mecanismos de los microorganismos para inactivar a los carbapenems

La bacteria produce mecanismos de resistencia para evadir su efecto, entre los cuales se incluyen: enzimas que hidrolizan la droga, expulsión de la droga mediante bombas de flujo, alteraciones en la permeabilidad y modificación del sitio blanco. La combinación de estos mecanismos puede causar altos niveles de resistencia en bacterias Gram negativas tales como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

1.6.1.1 Alteración en la permeabilidad de la membrana externa de las bacterias Gram negativas

Los carbapenémicos utilizan la estructura de las porinas para llegar a su sitio blanco, ante la presión de selección que ejercen, emergen cepas de bacterias mutantes deficientes en porinas, ya sea porque transportan mutaciones que generan porinas alteradas no funcionales o una expresión disminuída de éstas. De esta manera, la cantidad de carbapenémicos que llega al espacio periplásmico disminuye considerablemente y por lo tanto se generan cepas con fenotipos de resistencia.

1.6.1.2 Bombas de flujo: Son estructuras proteicas capaces de expulsar del citoplasma y del periplasma bacteriano compuestos tóxicos para la bacteria, tales como metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos. Para su funcionamiento utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato de energía. Su expresión puede ser permanente o inducida.



1.6.1.3 Modificación del sitio blanco: Las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une. En el caso de los carbapenémicos, la modificación en las proteínas de anclaje de penicilinas (PBP) disminuye su afinidad por los β -lactámicos sin afectar su función dentro de la célula bacteriana. (Moreno, 2013)

1.6.1.4 Producción de enzimas

Las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que pierda su funcionalidad. En este caso, la producción de enzimas tipo β -lactamasas es el principal mecanismo de resistencia empleado; estas enzimas periplásmicas hidrolizan los antibióticos β -lactámicos y evitan que la droga se pueda unir a su PBP blanco. Actualmente se utilizan dos esquemas de clasificación para las betalactamasas: uno se basa en la secuencia de aminoácidos de las enzimas (clasificación de Ambler), dando como resultado cuatro clases (A, B, C, y D) y el otro es una clasificación funcional propuesta por Bush y colegas en 1995, basada en los perfiles inhibitorios e hidrolíticos de las enzimas y se designan con numerales grupo 1, 2, 3 y 4. Sin embargo, en el año 2015 se postula una clasificación funcional actualizada, basada en características específicas de cada enzima; se conocen 3 tipos moleculares de carbapenemasas, denominados A, B y D. Las de las clases A y D son serina-beta-lactamasas, mientras que las de clase B, son metalo-beta-lactamasas, es decir, su actividad hidrolítica depende de la presencia de zinc. (Moreno, 2013) (Cercenado, 2015)

Producción de Carbapenemasas

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las β -lactamasas. Tienen la capacidad de hidrolizar tanto a los carbapenémicos como a otros β -lactámicos. Además, presentan la característica de ser resistentes contra la acción de los inhibidores de β -lactamasas disponibles; pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: serin carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A y D de Ambler y metalo- β -lactamasas (MBLs) que corresponden a la clase B de Ambler, denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su



funcionamiento. Estos grupos difieren en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores. (Moreno, 2013)

1.6.2 Tratamiento antimicrobiano de las infecciones por bacterias multirresistentes

Es imprescindible para la selección de los antimicrobianos considerar en cada caso, los estudios de sensibilidad y la localización de la infección.

La colistina, tigeciclina y fosfomicina son los antibióticos más eficaces, ya sean tipo *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas (KPC) o tipo metalo- β -lactamasa (MBL). Entre los aminoglucósidos que se usan en la actualidad, tan solo gentamicina mantiene una buena actividad contra las Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) tipo KPC. (Salgado, 2015)

- ❖ Polimixinas: La susceptibilidad “*in vitro*” de las polimixinas (colistina y polimixina B), se han convertido en la base del régimen principalmente en combinación con otros antibióticos.
- ❖ Colistina: Es la droga más utilizada, exhibe una actividad bactericida concentración-dependiente, siendo la relación entre el parámetro farmacocinético/farmacodinámico. La colistina es con frecuencia el único agente activo frente a Enterobacterias productoras de carbapenemasas que alcanza niveles séricos adecuados para tratar bacteremias. Algunos inconvenientes es que presenta nefrotoxicidad. No se conoce con precisión cuál es su dosificación óptima además se observa emergencia de resistencia en el curso de tratamientos, fundamentalmente en *Klebsiella spp* y cuando se usa en monoterapia (Salgado, 2015)
- ❖ Tigeciclina: Es una glicilciclina, agente bacteriostático, que tiene una buena sensibilidad “*in vitro*”. Aunque presenta algunas limitaciones:
 - Alcanza niveles bajos en plasma (precaución en bacteriemia)



- No se elimina por orina lo que no es buen candidato para infecciones urinarias
 - Eficacia limitada (en ensayos clínicos con patógenos sensibles) se observa exceso de mortalidad.
 - Emergencia de resistencia en monoterapia
 - Habitualmente se utiliza a dosis más elevadas de las aprobadas en fichas técnicas
 - Problemas de tolerancia
- ❖ Aminoglucósidos: La resistencia a aminoglucósidos está aumentando entre las EPC. En cepas susceptibles, datos “*in vitro*” han mostrado una rápida actividad bactericida de gentamicina. Sin embargo, cuando los organismos infectantes son sensibles a aminoglucósidos, éstos constituyen una importante opción terapéutica. Son escasos los datos publicados respecto al uso de aminoglucósidos como monoterapia frente a infecciones por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas
- ❖ Fosfomicina: Es un derivado natural de ácido fosfónico que inhibe la biosíntesis de la pared celular en un estadio previo a los betalactámicos. Esta droga presenta actividad “*in vitro*” frente a las Enterobacterias productoras de carbapenemasas. Estudios realizados reportan tasas de sensibilidad a fosfomicina hasta 93%, utilizada 2 a 4 gramos cuatro veces al día en combinación con colistina, gentamicina o piperacilina/tazobactam. (Alarcón Cavero & Aznar Cano, 2013)

Limitaciones:

- Emergencia de resistencia si se utiliza en monoterapia
- El porcentaje de sensibilidad varía según las especies, pero en general no permite uso empírico en infecciones graves
- Supone un elevado aporte de sodio
- Es recomendable utilizar fosfomicina en combinación con otros agentes para la mayoría de las infecciones, con la posible excepción del tracto urinario. (Jiménez, 2012)



CAPÍTULO 2

2.1 METODOLOGÍA

2.1.1 TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio fue descriptivo de corte transversal no experimental y de laboratorio, ya que se realizó un estudio de prevalencia en una muestra poblacional en un solo momento temporal, en el cual las variables fueron medidas en una sola ocasión. En este estudio las muestras de orina empleadas fueron obtenidas de pacientes que se encontraron internados 72 horas o más en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso (HVCM) durante el período septiembre-noviembre 2016.

2.1.2 POBLACIÓN, MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

2.1.2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Todos los pacientes con infección del tracto urinario internados en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del Hospital Vicente Corral Moscoso que reúnan los criterios de selección (inclusión, exclusión) durante el periodo septiembre-noviembre 2016.

2.1.2.2 MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

El muestreo se realizó recolectando todas las muestras de orina de los pacientes con ITU cada semana durante el periodo septiembre-noviembre 2016, de los pacientes internados en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCM.

El estudio se realizó en 100 muestras de orina positivas para cultivo que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión.

2.1.2.3 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La recolección de muestra se llevó a cabo en el laboratorio del Hospital Vicente Corral Moscoso, mientras que el proceso de análisis y cultivo de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca a cargo de la Dra. Carmen Lucía López, el cual está ubicado en la Avenida 12 de Abril y Agustín Cueva.



2.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

2.1.3 .1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Participarán en la investigación las muestras que cumplan con las siguientes características:

Del establecimiento:

Las muestras de pacientes con infección del tracto urinario internados en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso durante el periodo septiembre-noviembre 2016.

De las muestras:

- Las muestras de orina de pacientes que se encuentren internados 72 horas o más en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía.
- Las muestras de orina del paciente que posea y tenga disponible su historia clínica.
- Las muestras de orina de los pacientes que no hayan recibido terapia antimicrobiana 48 horas antes de que se realice el estudio.

Criterios microbiológicos.

- Muestras de orina que cumplan con los criterios de calidad para urocultivo (Anexo 1).

2.1.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No participarán en la investigación aquellas muestras de orina de pacientes hospitalizados en áreas diferentes a las definidas.
- Las muestras de pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión mencionados anteriormente.

**2.1.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES**

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIÓN	ESCALA	TIPO DE VARIABLE
INDEPENDIENTES				
Historia clínica	Documento médico legal que contiene todos los datos del paciente obtenidos tras un interrogatorio	Nominal	Presencia	Categórica
Hospitalización	Período de tiempo en donde un/a paciente pasa en un hospital hasta obtener el alta médica.	Nominal	Presencia	Numérica
Uso de antimicrobianos	Paciente sometido a tratamiento con una sustancia que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos.	Nominal	Observacional	Categórica
DEPENDIENTES				
Edad	Tiempo transcurrido entre el nacimiento y la fecha actual	Nominal	Observacional	Numérico.



Sexo	Variable biológica y genética diferenciada por caracteres sexuales. (Ortiz L. E., 2015)	Razón	Observacional	Categorico
Perfil de sensibilidad antimicrobiana	Es una técnica utilizada en el laboratorio de microbiología para estudiar la actividad de los antimicrobianos frente a los microorganismos responsables de las infecciones	Nominal	Observacional	Categorico
Prevalencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Escherichia coli</i> productoras de carbapenemasas	Número de casos de una enfermedad o evento en una población y en un momento dado.	Nominal	Presencia	Numérica y categórica

2.1.5 ASPECTOS ÉTICOS

La información recolectada se manejó de manera confidencial, y con el compromiso que los datos obtenidos de los expedientes revisados fueron utilizados únicamente con fines didácticos. Las muestras fueron proporcionadas por el laboratorio del HVCM.



Procedimiento

- Autorización del coordinador de docencia del HCVM para la elaboración del estudio y revisar los expedientes clínicos para comprobar que los pacientes cumplen o no con los criterios de exclusión e inclusión.
- Se solicitó información en el área de estadística donde se brindó datos epidemiológicos los cuales fueron fundamentales en el desarrollo de la investigación.
- Identificación de pacientes que se encuentran internados en los servicios de Ginecología, Clínica y Cirugía del HCVM a través de la revisión de la historia clínica, donde se encuentra el registro de todos los pacientes.
- Se receptaron las muestras entregadas por el personal de laboratorio, las mismas que fueron conservadas en refrigeración.
- Se trasladó cada una de las muestras al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca manteniendo la cadena de frío.
- Se procesaron las muestras conforme el Anexo 2
- Cada muestra se analizó por triplicado.
- Para la interpretación de los resultados se utilizó el Manual Clinical and Laboratory Standards Institute 2016 (*CLSI 2016*).

2.1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de laboratorio obtenidos del HCVM, así como los resultados del presente proyecto de investigación, se ingresaron utilizando el software Microsoft Excel.

Los análisis finales se realizaron en el programa estadístico Stata 10.0. Se hizo un análisis descriptivo con comparaciones entre las principales variables (sexo, edad y área de hospitalización) mediante tablas de distribución de frecuencias. Además, se realizó la prueba de Chi cuadrado con un nivel de significancia del 5%.



2.2 EQUIPOS, MEDIOS-REACTIVOS Y MATERIALES

2.2.1 EQUIPOS

- Incubadora (Mettler ® DE, 66812464)
- Microscopio (Olympus ® CX21-FS1, 7B13824)
- Cabina de seguridad biológica (Labcongo ® Clase II Tipo A2, 071076933)
- Autoclave (Trident ® EA 632, 0005-FA-0033)
- Autoclave (Fanem ® 415/3, FG9302)
- Baño María (Mettler ® LE-209)
- Balanza electrónica de precisión (Mettler ® PC440,222004000092040)
- Refrigeradora (Mabe, W19GTDX)
- Cocineta eléctrica (Mantua ®, 22200400092041)

2.2.2 MEDIOS Y REACTIVOS

- Agar base sangre CONDA®
- Agar Mueller-Hinton CONDA ®
- Agar EMB CONDA ®
- Agar CLED (cistina-lactosa deficiente en electrolitos) MERCK®
- Tiras reactivas para oxidasa
- Discos para Antibiograma (cartuchos x 50 discos impregnados): Imipenem 10ug, meropenem 10ug
- Reactivos para tinción de Gram (Promeclin®)
- Alcohol al 70% (Frasco 500ml)
- Peróxido de hidrógeno
- Aceite de inmersión
- Cepas biológicas: *E. coli* ATCC® 25922, *K. pneumoniae* ATTC 1705 productora de carbapenemasas (control positivo) y *K. pneumoniae* no productora de carbapenemasas (control negativo).

2.2.3 MATERIALES

- Cajas Petri estériles (Paquetes por 20 unidades)
- Vasos de precipitación 250ml Pyrex®
- Erlenmeyer 500ml Boeco®
- Tubos de ensayo con tapa rosca 10ml Pyrex®
- Varillas de vidrio
- Gradillas plásticas



- Lámparas de alcohol
- Guantes de Examinación estériles (cajas x 100 unidades) Semperguard®
- Mascarillas desechables (Caja x 50 unidades) Prehma®
- Cofias (Caja por 50 unidades)
- Papel Aluminio
- Suero Fisiológico
- Gasa (caja x 100 unidades)
- 160 Asas calibradas estériles 1ul
- Asas de platino calibradas
- Materiales de oficina (marcadores, cinta masking, papel periódico, hojas papel bond, etc)

2.3 TÉCNICAS

Para este proyecto de investigación se partió de una muestra de orina para el posterior aislamiento e identificación de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* considerando la morfología de la colonia, realizando las correspondientes pruebas de tinción y bioquímicas para confirmar su especie, así como también el Método Modificado de Hogde para confirmar la presencia de enzimas carbapenemasas.

2.3.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra de orina fue obtenida en un recipiente plástico totalmente estéril, recolectado por parte del paciente bajo pedido médico y enviada al laboratorio del HVCM, posteriormente se trasladaron dichas muestras que cumplieron con los criterios de inclusión para su análisis en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencia Químicas.

MUESTRA DE ORINA

Recolección - La muestra de orina debe ser obtenida en un recipiente estéril limpio, seco, desechable, transparente y de boca ancha con una capacidad de al menos 50 ml, además con cierre adecuado para garantizar la seguridad de la muestra cuando sea necesario ser transportada por largos períodos. Para este análisis la parte representativa de la micción del paciente es considerada óptima la de la primera



micción de la mañana debido a que al ser la más concentrada es más fácil encontrar los elementos propios de la muestra por lo que la capacidad de diagnóstico esta aumentada. (Soto, 2013)

Además, se recomienda no forzar la obtención de la muestra principalmente mediante la ingesta excesiva de líquidos debido a que esto diluye la muestra con lo que se puede alterar el recuento de microorganismos. (Soto, 2013)

Para evitar al máximo la contaminación de la orina, antes de comenzar el procedimiento de toma de muestra, el paciente debe lavar sus manos con agua y jabón, así como también se tiene que limpiar bien los genitales para evitar la contaminación por la flora comensal normal de la uretra. (Gómez R. B., 2013)

Por otra parte, el recipiente estéril donde se va recoger la muestra de orina no tiene que ponerse en contacto con ninguna otra zona del cuerpo o ropa del paciente. El recipiente debe mantenerse cerrado hasta el momento de recoger la orina, evitando que los dedos toquen los bordes o la parte interior del recipiente, ya que una muestra mal tomada no sólo puede resultar una recolección fallida de microorganismos, sino que también conducir a un diagnóstico y una terapia equivocada. (Nens, 2012)

La cantidad de muestra de la orina requerida variará según el tipo de análisis que se vaya a realizar ya sea el caso de un elemental y microscópico de orina (EMO) o cantidades muy superiores como un análisis de orina de 12 o 24 horas; el médico deberá ser el encargado de indicarle la cantidad exacta que debe recoger para cada tipo de análisis. (Gómez R. B., 2013)

Muestra obtenida mediante la técnica del chorro medio. - La orina del chorro medio provee muchas ventajas para garantizar un correcto análisis debido a que es una muestra menos contaminada, ya sea por células epiteliales o bacterianas, por lo que se considerada como la muestra de orina habitual. Este procedimiento se lleva a cabo luego de la correcta limpieza de los genitales, posteriormente el o la paciente orina primero en el inodoro, luego recoge una cantidad suficiente de orina en el recipiente estéril y termina de orinar en el inodoro, lo que permite que la parte del chorro urinario elimine al máximo por mecanismo de arrastre la flora normal de la uretra distal. (Lorenzo, 2010)



Cultivo de la orina o urocultivo. - es un estudio que se realiza mediante el empleo de diferentes técnicas de laboratorio en donde nos va a permitir conocer si existe alguna infección bacteriana. Mediante la técnica de siembra nos permite el aislamiento y recuento cuantitativo desde 10.000 a 100.000 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC)/ml de los patógenos más comunes presentes en la orina; así como establecer los diferentes antibióticos a los cuales el germen aislado es sensible mediante la prueba de sensibilidad o antibiograma. Para lo cual se recomienda evitar las muestras de orina contaminadas con excrementos, flujo vaginal y recoger la muestra antes de la administración de antibióticos. (Muñoz, 2007)

CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LA ORINA

Una vez obtenida la orina por cualquier método debe ser analizada lo más pronto posible, de preferencia antes de dos horas de recolectada, y en el caso que sea necesario ser transportada debe hacerse en condiciones de refrigeración (2 a 8°C) hasta por 24 horas para estudio del sedimento urinario y así evitar en muchas ocasiones, falsos resultados. (Gómez R. B., 2013)

2.3.2 TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en Bacteriología para la visualización de bacterias. Esta técnica facilita la diferenciación de la estructura de la pared bacteriana, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo.

La pared celular de las bacterias Gram negativas se tiñen de color rojo o rosado, está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa (constituida por fosfolípidos, lipopolisacáridos, y lipoproteínas), solo el 10% - 20% de la pared de la célula Gram negativa es peptidoglicano. (Santambrosio, 2009)

Las bacterias Gram positivas se tiñen de azul violeta, poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano (80-90%), pero no cuentan con membrana celular externa y contienen ácido teicoico. Además, permite distinguir las de acuerdo a la forma que presentan en cocos y bacilos. (Santambrosio, 2009) (López, 2014)



2.3.3 AGAR SANGRE

FUNDAMENTO

El extracto de músculo de corazón y la peptona, proporcionan al medio un elevado valor nutritivo, permitiendo el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, el cloruro de sodio permite mantener el balance osmótico y el agar es el agente solidificante. Al agregar de 5 -10 % de sangre ovina desfibrinada estéril se promueve el desarrollo de bacterias exigentes debido a que aporta factores de crecimiento y neutraliza efectos tóxicos de metabolitos y radicales libres por las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa presentes en los glóbulos rojos; así como la observación de las reacciones de hemólisis. (Britania, 2015)

2.3.4 AGAR CLED

FUNDAMENTO

La combinación de los dos indicadores de pH, azul de bromotimol y fucsina ácida permite una mejor diferenciación de los organismos según las colonias y la coloración del medio.

La gelatina y las peptonas de caseína son fuentes de nitrógeno, el extracto de carne proporciona nutrientes adicionales; se incluye lactosa en el medio con el objeto de proporcionar una fuente de energía para los microorganismos capaces de utilizarla a través de un mecanismo de fermentación. La cistina permite el crecimiento de los organismos coliformes de "colonias enanas".

Como indicador del pH se utiliza azul de bromotimol e indicador de Andrade (fucsina ácida) para diferenciar los microorganismos fermentadores y no fermentantes de lactosa; las fuentes de electrolitos se reducen para minimizar la proliferación de las especies de Proteus. (Dickinson, 2012)



2.3.5 AGAR EMB

FUNDAMENTO

Este medio de cultivo permite una diferenciación muy clara entre las colonias de organismos fermentadores de lactosa y aquellos que no la fermentan; el contenido de eosina y azul de metileno inhiben en cierto grado organismos Gram positivos. La presencia de sacarosa permite para algunos miembros del grupo coliformes fermentarla con más facilidad que la lactosa.

Las colonias lactosa positiva son azules a moradas con brillo metálico o poseen centros oscuros con periferias transparentes incoloras y las que son negativas en lactosa o sacarosa, se observan incoloras o rosa pálido transparentes. (Dickinson, 2013)

2.3.6 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se basan en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. (Aranguren)

Estas enzimas (catalasas, coagulasas, decarboxilasas, desaminasas, ureasas, peroxidasas, etc) involucradas en el metabolismo bacteriano, pueden ser evidenciadas en medios de cultivo especiales que contienen los substratos (DNA, hidratos de carbono, aminoácidos, etc) sobre los cuales ellas actúan, junto con un sistema indicador que va a poner de manifiesto la degradación del substrato o la presencia de un metabolito específico (ácido fórmico, ácido láctico, ácido succínico, indol, etc).

Para llevarlas a cabo, se pueden utilizar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que puede ser diferente aún para el mismo ensayo si se trata de diferentes microorganismos. (Aranguren)



KLIGLER HIERRO AGAR

FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la peptona de carne y la tripteína, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano; la lactosa y la glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el citrato de hierro y amonio es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico; el agar es el agente solidificante.

Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro. (Britanialab, Kligler Hierro Agar, 2010)

LISINA-HIERRO AGAR

FUNDAMENTO

Es un medio que permite la producción de dos enzimas: la lisina descarboxilasa y la lisina desaminasa, además la presencia de sales de hierro sirve para detectar la producción de H_2S por algunos microorganismos.

La descarboxilación de la lisina ocurre en ambiente anaeróbico o sea en el fondo del tubo y se pone de manifiesto por la alcalinización del medio produciendo un viraje del indicador púrpura de bromocresol. La presencia de glucosa en los componentes del LIA determina primero una reacción de fermentación, produciendo acidificación y cambio de color del medio a amarillo y el pH favorable para la reacción de descarboxilación que ocurre después, volviendo a su color violeta original la parte del fondo del tubo.

La producción de H_2S se evidencia por la presencia de un precipitado negro por utilización de las sales de hierro. (Britanialab, 2010)



MEDIO SIM (SULFURO-INDOL-MOTILIDAD)

FUNDAMENTO

El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas, y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa; el indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovac's o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo.

Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2. (Britanialab, 2010)

UREA AGAR BASE

FUNDAMENTO

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

Algunas bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono; estos productos alcalinizan el medio haciendo virar el rojo de fenol del amarillo al rojo. En este medio, la fermentación de la glucosa activa la enzima ureasa, acelerando la velocidad del metabolismo en aquellos organismos que hidrolizan lentamente la urea, como especies de *Enterobacter* o *Klebsiella*. (Britanialab, 2010)



AGAR CITRATO

FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono; ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático; el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino.

El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad; el metabolismo del citrato se realiza en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa a través del ciclo del ácido tricarboxílico.

El desdoblamiento del citrato da progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos; el medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa. (Britanialab, 2010)

MEDIO RMVP (ROJO DE METILO- VOGES PROSKAUER)

FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la pluripeptona aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable.

La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos, a través de distintas vías metabólicas; según la vía utilizada, se originarán productos finales ácidos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), o productos finales neutros (acetil metil carbinol).



Esta diferencia en el metabolismo bacteriano, podría ser reconocida por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos, y por la adición de alfa naftol e hidróxido de potasio para evidenciar la presencia de productos finales neutros.

Voges y Proskauer, describieron una coloración rojiza que aparecía después de adicionar hidróxido de potasio a los cultivos de ciertos microorganismos en medio con glucosa; esta coloración se debe a la oxidación del acetilmetil carbinol a diacetilo el cual reacciona con la peptona del medio para dar un color rojo. (Britanialab, 2010)

2.3.7 PRUEBA DE OXIDASA

FUNDAMENTO

Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo que es reducido por el oxígeno molecular que produce agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana.

Hay dos compuestos susceptibles a oxidarse por la acción de esta enzima, dichos compuestos son dimetil-fenil-diamina y tetrametil-parafenil-endiamina. Siendo el más utilizado el segundo, también se dispone en el mercado de tirillas de Oxidasa o el reactivo ya preparado.

La prueba es muy útil para diferenciar Enterobacterias (Todas Oxidasa negativas) de otros géneros como *Pseudomona* o *Neisserias* oxidasa positiva. (Elliott, 2006) (Diagnostics, 2012)



2.4 PRUEBA DE SENSIBILIDAD EN DISCO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE DIFUSIÓN CON DISCOS (KIRBY-BAUER)

Determinar la susceptibilidad a antibióticos *“in vitro”* de una cepa bacteriana que se aísla de un producto biológico y que se sospecha como el agente etiológico de un proceso infeccioso para orientar la correcta terapéutica individual y así evitar la evolución de la resistencia bacteriana. (UANL, 2013)

El antibiograma disco-placa consiste en depositar un disco que tiene una cantidad específica de antibiótico, es aplicado a una superficie de agar inoculado con un microorganismo. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición; la concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI. (Picazo, 2000)

2.4.1 PRUEBAS PARA CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS

Los procedimientos institucionales de control de las infecciones o investigaciones epidemiológicas pueden requerir la identificación de Enterobacterias productoras de carbapenemasas. Estas pruebas no se recomiendan actualmente para el uso rutinario; las Enterobacterias aisladas productoras de carbapenemasas suelen presentar resistencia a uno o más carbapenems. La no susceptibilidad de Ertapenem es el indicador más sensible de la producción de carbapenemasas, utilizando los criterios interpretativos de concentración mínima inhibitoria (CIM) de Enterobacterias para carbapenems se debe realizar el Método de Hodge modificada (MHT). (CLSI, 2016)



2.4.2 TEST MODIFICADO DE HOGDE (MHT) CONFIRMATORIO POR SUPUESTOS CASOS DE PRODUCCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS

Prueba	Test confirmatorio
Método de ensayo	MHT
Medio	Agar Mueller Hinton (MHA)
Concentración de Antimicrobiano	Disco de Ertapenem 10 ug o disco de Meropenem 10 ug
Inóculo	<p>Preparar una suspensión de 0,5 McFarland estándar de <i>E. coli</i> ATCC® 25922 en caldo o solución salina y realizar una dilución 1:10 en solución salina o caldo e inocular en una placa de MHA como para el procedimiento de difusión de disco de rutina. Dejar que la placa se seque de 3 a 10 minutos.</p> <p>Colocar el disco para el cual el microorganismo presentó menor el halo de inhibición en el centro de la placa.</p> <p>Usando un asa o un hisopo, se recoge de 3 a 5 colonias de la prueba o el organismo crecido de 24 horas en una placa de agar sangre e inocular en una línea recta fuera del borde del disco.</p>
Condiciones de incubación	35 ° C ± 2 ° C; aire ambiente
Tiempo de incubación	16-20 horas
Resultados	<p>Después de la incubación, examinar la placa de MHA.</p> <p>Crecimiento mejorado = positivo para la producción de carbapenemasa.</p> <p>Ningún aumento de crecimiento = negativo para la producción de carbapenemasa.</p>

Fuente: Manual de CLSI, Edición enero 2016, Número M100, 26th ed. (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016)

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Durante el período de estudio se analizaron 130 muestras de orina provenientes de pacientes con ITU de las distintas áreas estudiadas del HVCM (Clínica, Cirugía, Ginecología), de las cuales 100 fueron positivas para cultivo.

CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA RECUPERADA

Tabla 1: Prevalencia de microorganismos causantes de infección del tracto urinario en pacientes de las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el periodo comprendido entre septiembre-noviembre del 2016.

MICROORGANISMO	NÚMERO (n)	PORCENTAJE (%)
<i>Escherichia coli</i>	70	70%
Cocos Gram positivos	18	18%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6%
<i>Pseudomona spp.</i>	4	4%
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2%
TOTAL	100	100%

En la tabla número 1 se encontró a *Escherichia coli* (70%) como el microorganismo más prevalente en urocultivo siendo el resultado coincidente con lo citado en la bibliografía regional, local, nacional e internacional; haciendo relación con el estudio de “Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en muestras de orina de pacientes ambulatorios de los centros de salud 1, 2 y 3” por los autores Paul León y Gabriel Vásquez en la ciudad de Cuenca en el año 2013, el porcentaje de *Escherichia coli* encontrado fue de 45.98%, tomando en cuenta que la población estudiada fue de 224 pacientes comparando con el presente estudio en donde la población fue de 100 pacientes.



A pesar de que la población es diferente se demostró que *Escherichia coli* es el principal microorganismo presente en muestras de orina, siendo el responsable de la mayoría de infecciones del tracto urinario. (León & Vasquez, 2013)

Es indiscutible que *E. coli* es el microorganismo más prevalente recuperado de ITU

CARACTERIZACIÓN DE PACIENTES CON ITU

Tabla 2: Prevalencia de ITU según el rango de edad en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

EDAD				
<20 n (%)	21-40 n (%)	41-60 n (%)	>60 n (%)	Total n (%)
6 (6 %)	54 (54 %)	26 (26 %)	14 (14 %)	100 (100%)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.102$				

Las muestras fueron obtenidas de pacientes con una edad comprendida entre 17 y 94 años.

En un Estudio Comparativo sobre infecciones intrahospitalarias entre adultos mayores y menores realizado en Perú en el año 2000 por Mercy Jhong Olivera, Luis Varela Pinedo y Luis Sialer Vildózola, se evidenció que el 63% eran adultos menores de 60 años y 37% eran adultos mayores de 60 años que presentaban infecciones del ITU; mientras que en el presente estudio se encontró que el 80% corresponde a pacientes menores a 60 años y el 14% corresponde a pacientes mayores a 60 años. Esta variación de porcentajes puede deberse a los diferentes tipos de población estudiada en el periodo de tiempo considerado. (Olivera, y otros, 2000)

A pesar de que, en el actual estudio, como indica la tabla #2 existe un valor elevado de pacientes con ITU en las edades comprendidas entre 21-60 años con respecto al resto de rango de edades; estas diferencias no fueron estadísticamente significativa. ($p=0.102$)



En otro estudio sobre “Prevalencia de Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) provenientes de urocultivo de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital José Carrasco Arteaga”. Realizado por las autoras Johanna Cajas y Johanna Cobos en el año 2015 se demostró que el porcentaje de pacientes con ITU (79%) correspondió a una edad comprendida entre 17 y 65 años lo cual es similar al presente estudio con un valor de 86%; probablemente porque la población del estudio fue similar en relación a los rangos de edad. (Cajas & Cobos, 2015).

Tabla 3: Prevalencia de ITU según el género de pacientes hospitalizados en las áreas de Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

GÉNERO		
Femenino	Masculino	Total
n (%)	n (%)	n (%)
76 (76 %)	24 (24 %)	100 (100%)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.676$		

En la tabla 3 se puede apreciar que el género femenino presenta un mayor porcentaje de ITU correspondiente al 76% con respecto al sexo masculino donde hay un menor porcentaje correspondiendo al 24%, por lo que se puede observar que las mujeres tienen más predisposición a sufrir infecciones urinarias por su anatomía, lo cual coincide con la literatura a nivel mundial. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas en la población estudiada ($P=0.102$).

Al analizar con la tesis “Resistencia bacteriana por producción de B-lactamasas de espectro extendido de Enterobacterias en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso en el año 2013” por los autores Jorge Guamán, Milton Guamán y Román Lima en la ciudad de Cuenca; se puede comparar que el 52,4% de la población analizada corresponden al sexo femenino, lo que confirma una vez más la asociación en donde las ITU son más frecuentes en mujeres. (Guamán, Guamán, & Lima, 2013)

Al hacer una comparación con la tesis “ Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el “Hospital Vozandes Quito” por las autoras Carmen León y Michelle Pacheco entre los años 2005 y 2009, se observó que la mayoría de los pacientes correspondieron al género femenino (86,56 %); en el presente trabajo la estadística realizada al sexo femenino le corresponde un porcentaje menor (76%); esto podría deberse a que el muestreo citado fue de n= 1038 durante el período antes mencionado, mientras que el muestreo realizado en el presente estudio fue de 100 muestras en un menor periodo de tiempo. (León & Pacheco, 2010)

Tabla 4: Prevalencia de ITU según las áreas de hospitalización: Clínica, Cirugía y Ginecología del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

ÁREA HOSPITALARIA			
Cirugía n (%)	Clínica n (%)	Ginecología n (%)	TOTAL n (%)
6 (6 %)	84(84 %)	10 (10 %)	100 (100%)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.623$			

Como se puede observar en la tabla 4 existe un claro predominio de pacientes con ITU en el área de Clínica presentando un porcentaje del 84%.

Comparando con la tesis “Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” período enero-diciembre del 2014, realizado por Carlos Huillcatanda y Jonnathan Mocha se observa que dicha área presenta menor porcentaje (48,8%) de pacientes con ITU, sin embargo se debe tomar en cuenta que la población estudiada fue de 160 pacientes y el análisis se realizó en 7 áreas diferentes; a diferencia del actual estudio en donde el número de pacientes estudiados fue de 100 y el análisis se realizó solo en 3 áreas, presentando un porcentaje mayor. (Huillcatanda & Mocha, 2014)

A pesar de existir un predominio en el área de Clínica con respecto a las áreas de Cirugía y Ginecología no hubieron diferencias estadísticamente significativas($P=0.623$)



DESCRIPCIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS EN BASE A LA PRODUCCIÓN DE CARBAPENEMASAS SEGÚN EDAD, GÉNERO Y ÁREA DE HOSPITALIZACIÓN DE LOS PACIENTES CON ITU.

Tabla 5: Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas en muestras de orina de pacientes con ITU del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el periodo septiembre-noviembre del 2016.

Microorganismo	Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC)		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
<i>Escherichia coli</i>	0 (0,00 %)	70 (92.10%)	70 (92.10%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (5.27%)	2 (2.63%)	6 (7.90 %)
Total	4 (5.27%)	72 (94.73%)	76 (100 %)

Como indica la tabla 5 se observa que *Escherichia coli* no presentó ninguna resistencia a los carbapenems, mientras que de las 6 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 4 resultaron productoras de carbapenemasas constituyendo un 5.27% del total de 72 cepas recuperadas de las bacterias de interés para este trabajo; lo que corrobora el cumplimiento de la hipótesis planteada.

Al comparar con el estudio "Detección de carbapenemasas tipo NDM-1 y KPC-2 en Enterobacterias BLEE+: evaluación fenotípica con confirmación genotípica". En la ciudad de Guatemala en el año 2013 por los autores Ana María Chinchilla, Bryan Tomas y Robín Morales donde se presentó un 2.5% de *Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas* (KPC), considerando que de las 118 cepas analizadas el 58% proviene de urocultivo a diferencia del presente estudio donde el 100% provienen de urocultivo. (Chinchilla, Tomas, & Morales, 2012)

De la misma manera en relación con el estudio brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa en el Hospital de Infectología (noviembre del 2012),



realizado por Katuska Jiménez en la ciudad de Guayaquil, se obtuvo un 3,1% de prevalencia de KPC. (Jiménez, 2012)

En relación al estudio “Presencia de carbapenemasas en Enterobacterias de muestras recolectadas de nueve hospitales de la ciudad de Quito, de mayo del 2009 a noviembre del 2010 “, por la autora Ana María Jaramillo. Se encontró un 2% de cepas productoras de carbapenemasas considerando que el número de muestras analizadas fue de 2651 y que el 78.46% correspondieron a muestras de orina. (Jaramillo, 2010)

En relación con el estudio “Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” periodo enero-diciembre del 2014”, realizado por Carlos Huillcatanda y Jonnathan Mocha, en donde se encontró un 12,5% de bacterias productoras de carbapenemasas considerando que el número de muestras de orina involucradas fueron 92 obteniendo un porcentaje de 4.34%; lo que evidenció un incremento de Enterobacterias productoras de carbapenemasas, convirtiéndose en una alerta epidemiológica. (Huillcatanda & Mocha, 2014)

Tabla 6: Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas según rango de edad de los pacientes con ITU del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC)	EDAD				
	<20 n (%)	21-40 n (%)	41-60 n (%)	>60 n (%)	TOTAL n (%)
Positivo	0 (0,00 %)	2 (4,65 %)	2 (9,52 %)	0 (0,00 %)	4 (5.26 %)
Negativo	5 (100 %)	41 (95,35 %)	19 (90,48 %)	7 (100 %)	72(94.74 %)
TOTAL	5 (100 %)	43 (100 %)	21 (100 %)	7 (100 %)	76 (100 %)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.691$					



Analizando la tabla 6 se observa que el grupo de edad más afectado por cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas están en las edades comprendidas entre 21- 40 (4.65%) y 41- 60 años (9.52%); sin embargo, no hubieron diferencias estadísticamente significativas ($P=0.691$).

Haciendo relación con el estudio “Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” período enero-diciembre del 2014”, realizado por Carlos Huillcatanda y Jonnathan Mocha, en el que se obtuvo un porcentaje del 20% de bacterias productoras de carbapenemasas tanto en el grupo entre 21-30 años como de 51-60 años; se encontró que en los dos estudios las cepas productoras de carbapenemasas se recuperaron en su totalidad de pacientes en un rango de edad entre 21-60 años. (Huillcatanda & Mocha, 2014)

Tabla 7: Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas de acuerdo al género de los pacientes con ITU del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC)	Género		
	Femenino n (%)	Masculino n (%)	TOTAL n (%)
Positivo	4 (6,90 %)	0 (0,00 %)	4 (5.26 %)
Negativo	54 (93,10 %)	18 (100 %)	72 (94.74 %)
TOTAL	58 (100 %)	18 (100 %)	76 (100 %)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.252$			

Al analizar la Tabla 7 podemos observar que el género femenino es el más afectado por cepas KPC (6.90%), mientras que en el género masculino no se encontró evidencia de dicha cepa. A pesar de esto, no hubieron diferencias estadísticamente significativas ($P=0.252$).

Al analizar con el estudio Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” periodo enero-diciembre del 2014”, realizado por Carlos Huillcatanda y Jonnathan Mocha fue similar el resultado ya que la mayor prevalencia de cepas productoras de carbapenemasas corresponde al género femenino (65%). (Huillcatanda & Mocha, 2014)

En relación con el estudio “Descripción clínica y epidemiológica de un brote nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en Buenos Aires, Argentina”, realizado por los autores Ezequiel Córdova, María Lespada, Nora Gómez, Fernando Pasterán, Viviana Oviedo y Claudia Rodríguez-Ismael; igualmente en el período de estudio se documentaron 27 casos de infección por KPC con un 70 % correspondiente al sexo femenino. Lo que podría deberse a que el género femenino por su anatomía presenta mayor predisposición a presentar ITU. (Córdova, 2011)

Tabla 8: Prevalencia cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas de acuerdo al área de hospitalización: Clínica, Cirugía, Ginecología del HVCM de la ciudad de Cuenca durante el período septiembre-noviembre del 2016.

Enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC)	ÁREA HOSPITALARIA			
	Cirugía n (%)	Clínica n (%)	Ginecología n (%)	Total n (%)
Positivo	1 (25%)	3 (4,62 %)	0 (0,00 %)	4 (5.26 %)
Negativo	3 (75 %)	62 (95,38 %)	7 (100 %)	72 (94.74 %)
Total	4 (100 %)	65 (100 %)	7 (100 %)	76 (100 %)
Prueba Chi cuadrado $P \leq 0.05$ *Valor $P = 0.168$				



La Tabla 8 indica que la mayor prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas corresponde a muestras de pacientes del área de Cirugía con el 25% (1 de 4 cepas), seguido de pacientes del área de Clínica con 4,62 % (3 de 62 cepas). A pesar de que los porcentajes muestran una gran variación en las diferentes áreas, no hubieron diferencias estadísticamente significativas. (P=0.168).

Al comparar con el estudio Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” periodo enero-diciembre del 2014”, realizado por Carlos Huillcatanda y Jonnathan Mocha, se encontró que las áreas con mayor prevalencia de cepas productoras de carbapenemasas fueron Clínica con 35% y Cirugía con el 30%. (Huillcatanda & Mocha, 2014)



CONCLUSIONES

En el estudio realizado en el HVCM de la ciudad de Cuenca en el período septiembre-noviembre del 2016, se trabajó con muestras de orina de pacientes con ITU para determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas; obteniéndose las siguientes conclusiones:

- La Prevalencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario hospitalizados en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso en el período septiembre- noviembre fue de 5.27%, cumpliendo con la hipótesis propuesta inicialmente.
- No se encontraron cepas de *Escherichia coli* productoras de carbapenemasas en muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario hospitalizados en las áreas de Clínica, Ginecología y Cirugía del Hospital Vicente Corral Moscoso en el período septiembre- noviembre
- Los pacientes del área de Cirugía con ITU presentaron mayor prevalencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas 25% (1 de 4 cepas), seguido de los pacientes del área de Clínica con un 4,62% (3 de 65 cepas) y Ginecología 0%.
- Se encontró que el género femenino con ITU en el rango de edad comprendido entre 21-60 años presentaron una prevalencia de 5.27% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas.
- De un total de 130 muestras de orina de pacientes con ITU, 100 fueron positivas para urocultivo, recuperándose *Escherichia coli* (70%) siendo la más prevalente de la población bacteriana estudiada, seguida de Cocos Gram positivos (18%), *Klebsiella pneumoniae* (6%), *Pseudomonas spp* (4%) y *Proteus mirabilis* (2%).



RECOMENDACIONES

Con los resultados anteriormente expuestos y de acuerdo a todo lo sucedido durante y posterior al procesamiento y elaboración final de este documento, se recomienda lo siguiente:

- Realizar más estudios sobre este tipo de resistencia en otras áreas del HVCM, para determinar la presencia de microorganismos productores de carbapenemasas, con el fin de disponer registros estadísticos.
- Correr siempre un control de calidad positivo y negativo en relación a la producción de carbapenemasas con cada ensayo.
- Continuar con estudios de genotipificación de las cepas productoras de carbapenemasas para evidenciar los serotipos presentes a nivel hospitalario



BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón Cavero, T., & Aznar Cano, E. (Septiembre de 2013). *PLAN DE PREVENCIÓN Y CONTROL FRENTE A LA INFECCIÓN POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS (EPC)*. Recuperado el NOVIEMBRE de 21 de 2016, de GUÍA DE ACTUALIZACIÓN:ENTEROCABTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS:http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Contentdisposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3DPLAN+PREVENCION+Y+CONTROL+EPC+CM_v1_sept+2013.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26
- Amasifuen, L., & Ruíz, N. (2012). *“Diagnóstico presuntivo de infección del tracto urinario y complicaciones más frecuentes en gestantes de Población Mestiza y Nativa Quechua de la Ciudad de Lamas, Junio – Setiembre 2012”*. Recuperado el Enero de 17 de 2017, de UNSM: http://www.unsm.edu.pe/spunsm/archivos_proyecto/archivo_109_Binder1.pdf
- Andrade, V. (2003). *Caracterización de Klebsiella pneumoniae productora de la β -lactamasa SHV-5, En una unidad de cuidados intensivos*. Recuperado el 27 de 11 de 2016, de Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas.: <http://www.scielosp.org/pdf/spm/v46n6/22565.pdf>
- Aranguren, M. M. (s.f.). *IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS*. Recuperado el 1 de noviembre de 2016, de [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/1682472836.Bact_identificaci%C3%B3n_bioqu%C3%ADmica_enterobacterias%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/1682472836.Bact_identificaci%C3%B3n_bioqu%C3%ADmica_enterobacterias%20(1).pdf)
- Ardila Medina, C. (2010). *Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica*. Recuperado el 28 de octubre de 2016, de SCIELO: <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v22n1/original3.pdf>
- Bell, M. (2014). *Klebsiella Pneumoniae e infecciones del tracto urinario*. Recuperado el 22 de Noviembre de 2016, de http://www.ehowenespanol.com/klebsiella-pneumoniae-infecciones-del-tracto-urinario-hechos_173450/
- Biotaetscientia. (7 de junio de 2011). *Brote de E. coli en Europa*. Recuperado el 28 de octubre de 2016, de <https://biotaetscientia.wordpress.com/tag/patogenia/>
- Britania. (2015). *SANGRE AGAR BASE*. Recuperado el 17 de enero de 2017, de Britanialab:<http://www.britanialab.com/productos/HT%20B04149%20REV%2001-SANGRE%20AGAR%20BASE.pdf>
- Britanialab. (2010). Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de Lisina Hierro Agar: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/lisinahierroagar.htm>
- Britanialab. (2010). *Kligler Hierro Agar*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/kliglerhierroagar.htm>



- Britanialab. (2010). *MR-VP Medio*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/mr-vpmedio.htm>
- Britanialab. (2010). *SIM Medio*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/simedio.htm>
- Britanialab. (2010). *Simmons Citrato Agar*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/simmonscitagar.htm>
- Britanialab. (2010). *Urea Agar Base*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/christensemed.htm>
- Cajas, J., & Cobos, J. (2015). *“Prevalencia de Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) provenientes de urocultivos de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital José Carrasco Artega”*. Recuperado el 12 de noviembre de 2016, de Repositorio Digital Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/22260/1/tesis.pdf>
- Calvo, J., Cantón, R., & Col. (2011). *Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos*. Recuperado el 14 de octubre de 2016, de Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>
- Canet, J. J. (19 de enero de 2016). *Escherichia Coli: características, patogenicidad y prevención*. Recuperado el 29 de octubre de 2016, de Betelgeux: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
- Cercenado, E. (2015). *Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio*. Obtenido de Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/sup1/cercenado.pdf>
- Chinchilla, A., Tomas, B., & Morales, R. (2012). *“DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS TIPO NDM-1 Y KPC-2 EN ENTEROBACTERIAS BLEE+: EVALUACIÓN FENOTÍPICA CON CONFIRMACIÓN GENOTÍPICA”*. Recuperado el 16 de Diciembre de 2016, de Biblioteca USAC: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_9215.pdf
- CLSI. (enero de 2016). *Performance Standards for Antimicrobial*. Recuperado el 10 de noviembre de 2016, de Clinical and laboratory Standarts Institute: www.clsi.org
- Córdova, E. M. (4 de Diciembre de 2011). *“Descripción clínica y epidemiológica de un brote nosocomial por Klebsiella pneumoniae productora de KPC en Buenos Aires”*. Recuperado el 17 de Diciembre de 2016, de Elsevier: file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/S0213005X12000298_S300_es.pdf



- Cordova, K. (2013). *Klebsiella Pneumoniae*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2016, de Salud y bienestar: <http://microbiologia2a.blogspot.com/2013/04/klebsiella-pneumoniae.html>
- Diagnostics, H. (2012). *OxiStrips™, prueba de oxidasa, 25 tiras de papel por paquete, por Hardy Diagnóstico*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/product/z93-oxistrips-oxidase-test-25-paper-strips-per-package-by-hardy-diagnostics-test-disks-strips-reagents
- Dickinson, B. (2012). *BD CLED Agar*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8758>
- Dickinson, B. (2013). *EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar) Modified*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://www.bd.com/resource.aspx%3FIDX%3D8765>
- Echeverri, L., & Cataño, J. (27 de Agosto de 2014). *Klebsiella pneumoniae como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia*. Recuperado el 20 de Enero de 2016, de https://www.researchgate.net/publication/260768262_Klebsiella_pneumoniae_a_s_a_nosocomial_pathogen_Epidemiology_and_drug_resistance
- Elika. (28 de febrero de 2013). *ESCHERICHIA COLI*. Recuperado el 26 de octubre de 2016, de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf
- Elliott, D. (2006). *TIRAS OXISTRIPS™ OXIDASA Y OXISTICKS™ OXIDASA HISOPOS*. Recuperado el 5 de noviembre de 2016, de Hardy Diagnostic: https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/OxiStripsOxisticks.htm
- FAO. (2011). *Escherichia coli*. Recuperado el 29 de octubre de 2016, de EMPRES: <http://www.fao.org/3/a-i2530s/i2530s03.pdf>
- Farinas, M., & Martínez, L. (18 de marzo de 2013). *Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii y otros bacilos gramnegativos no fermentadores*. Recuperado el 22 de octubre de 2016, de Elsevier: https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/eimc/seimc_eimc_v31n06p402a409.pdf
- Galí Navarro, Z. d. (marzo de 2010). *Enterobacterias. Antibioticoterapia*. Recuperado el 25 de octubre de 2016, de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:cJLGfv0ZUkUJ:www.sld.cu/galerias/doc/sitios/apuacuba/enterobacterias_y_antibioticoterapia._dra_zuleica.doc+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec
- Gómez, A. (Marzo de 2011). *Presencia de carbapenemasas en Enterobacterias de muestras recolectadas de nueve hospitales de la Ciudad de Quito, de mayo del 2009 a noviembre del 2010*. Recuperado el 14 de octubre de 2016, de



REPOSITORIO

PUCE:

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/4483/TESIS-PUCE-4297.pdf;jsessionid=8B88CA4D75DAAA9652135AD2F2F588E1?sequence=1>.

- Gómez, R. B. (2013). *RECOMENDACIONES PARA EL ANÁLISIS DEL SEDIMENTO URINARIO*. Santiago, Chile. Recuperado el 25 de octubre de 2016, de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/RECOMENDACIONES%20PARA%20EL%20AN%C3%81LISIS%20DEL%20SEDIMENTO%20URINARIO.PDF>
- Guamán, J., Guamán, M., & Lima, R. (2013). “*RESISTENCIA BACTERIANA POR PRODUCCIÓN DE B LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS EN PACIENTES DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO. ENERO-DICIEMBRE 2013*”. Recuperado el 15 de diciembre de 2016, de Repositorio Digital Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/22434/1/tesis.pdf>
- Hernández, E. (2010). “*ESCHERICHIA COLI*” PRODUCTORES DE BLEE AISLADOS DE UROCULTIVO: IMPLICACIONES EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN URINARIA. Recuperado el 25 de octubre de 2016, de Universidad Complutense de Madrid: <http://eprints.ucm.es/10442/1/T31499.pdf>
- Huillcatanda, C., & Mocha, J. (2014). *Prevalencia de bacterias productoras de beta-lactamasas en el “Hospital Vicente Corral Moscoso” periodo enero-diciembre del 2014*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2016, de Repositorio Digital Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25357/1/Proyecto%20de%20Investigaci%C3%B3n.pdf>
- Jaramillo, A. (2010). “*Presencia de carbapenemasas en Enterobacterias de muestras recolectadas de nueve hospitales de la ciudad de Quito, de mayo del 2009 a noviembre del 2010* “. Recuperado el 16 de Diciembre de 2016, de Repositorio PUCE: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/4483/TESIS-PUCE-4297.pdf?sequence=1>
- Jiménez, K. (NOVIEMBRE de 2012). *BROTE DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUCTORA DE CARBAPENEMASA EN EL HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA NOVIEMBRE DEL 2012*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11068/1/JIMENEZkathiuska.pdf>
- King, S. (2008). *Análisis de orina y líquidos corporales*. Buenos Aires: Panamericana. Recuperado el 19 de Enero de 2017
- León, C., & Pacheco, M. (2010). *Epidemiología de las infecciones por microorganismos productoras de BLEE en el "Hospital Vozandes Quito"*. Recuperado el 12 de Diciembre de 2016, de Biblioteca "Hernán Malo González": http://biblioteca.uazuay.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=author_see&id=8647



- León, P., & Vasquez, G. (2013). *PREVALENCIA DE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN MUESTRAS DE ORINA DE PACIENTES AMBULATORIOS DE LOS CENTROS DESALUD 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE CUENCA*. Recuperado el 14 de Diciembre de 2016, de Repositorio Digital de la Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4631/1/TESIS.pdf>
- Lopardo, H., & Predari, S. (2016). *Enterobacterias*. Recuperado el 29 de octubre de 2016, de MANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA: <http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>
- López, L. E. (2014). *Las tinciones básicas en el laboratorio* (Vol. 3). Mexico DF. Recuperado el 30 de octubre de 2016, de <http://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf>
- Lorenzo, K. S. (2010). *Análisis de orina y líquidos corporales* (5ta ed.). Panamericana.
- Malbrán, C. (2014). *PROTOCOLO PARA DETECCIÓN DE KPC EN ENTEROBACTERIAS*. Recuperado el 13 de octubre de 2014, de Centro Nacional de Salud Pública: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_documentos_tecnicos/protocolo%20deteccion%20de%20%20KPC%20en%20enterobacterias%202014.pdf
- Meza, L. (2012). *COMPLICACIONES Y FRECUENCIA DE LAS INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN ADOLESCENTES EMBARAZADAS*. Recuperado el 18 de Enero de 2017, de Repositorio Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1868/1/TESIS%20LIZBETH%20MEZA%20PDF.pdf>
- Minguito Parra, C. (2015). *Factores de riesgo y efectos de las infecciones por Klebsiella pneumoniae resistente a carbapenémicos en pacientes de cuidados intensivos*. Recuperado el 14 de 12 de 2016, de Universidad Autónoma de Madrid: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/665643/minguito_parra_cristina.pdf?sequence=1
- Molina, J. (3 de agosto de 2015). *ESCHERICHIA COLI DIARROGÉNICA*. Recuperado el 27 de octubre de 2016, de FACMED: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
- Moreno, K. (2013). *CARBAPENÉMICOS: TIPOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANOS*. Recuperado el 21 de 12 de 2016, de REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/608/art8.pdf>



- Muñoz, C. (2007). *Pruebas de Laboratorio y Análisis de orina*. Madrid. Recuperado el 27 de octubre de 2016, de <https://www.salud.mapfre.es/pruebas-diagnosticas/laboratorio/analisis-de-orina/>
- Nens, H. d. (2012). *Recogida, transporte y conservación de muestras de orina y heces para el estudio microbiológico y parasitario*. Barcelona. Recuperado el 25 de octubre de 2016, de <http://hospitaldenens.com/es/guia-de-salud-y-enfermedades/recogida-transporte-y-conservacion-de-muestras-de-orina-y-excrementos-para-el-estudio-microbiologico-y-parasitario/>
- Nordmann, P., Nass, T., & Poirel, L. (30 de noviembre de 2010). *Propagación mundial de enterobacterias productoras de carbapenemasas*. Recuperado el 10 de octubre de 2016, de Caja de seguro social Panamá: http://www.css.gob.pa/KPC%20Global%20Spread_SPA.pdf
- Olivera, J., Rosana, M., Varela, P., Fernando, L., Vildózola, S., & Eduardo., L. (2000). *Estudio comparativo sobre infecciones intrahospitalarias entre adultos mayores y menores de 60 años*. Recuperado el 12 de noviembre de 2016, de Universidad Nacional Mayor de San Marcos: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v13n4/estudio.htm>
- OMS. (30 de Abril de 2014). OMS. Obtenido de La prensa: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
- Ortiz, H., & Méndez, I. (2013). *“INVESTIGACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y COLIFORMES EN LOS TECLADOS DE LAS COMPUTADORAS DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN REGIONAL JUAN BAUTISTA VÁSQUEZ”*. Recuperado el 27 de octubre de 2016, de Repositorio Digital Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4714/1/TESIS.pdf>
- Ortiz, L. E. (2015). *FACTORES CLÍNICOS ASOCIADOS A MULTIRRESISTENCIA BACTERIANA EN EL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE LAS FUERZAS ARMADAS N°1*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6755/1/T-UCE-0006-001.pdf>
- Oteo, J., Calbo, E., & Col. (25 de Febrero de 2014). *La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España: ~ documento de posicionamiento de los grupos de estudio GEIH y GEMARA de la SEIMC*. Recuperado el 13 de octubre de 2016, de Elsevier: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90362231&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=17&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v32n10a90362231pdf001.pdf
- Paciel, D., Seija, V., & Priet, J. (2011). *Enterobacterias productoras de KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemasa)*. Recuperado el 12 de Diciembre de 2016, de Rev. Tendencias:



http://www.infectologia.edu.uy/images/stories/pdf/publicaciones/biomedicas/tendencias/KPC_pacieletal.pdf

- Paucarima, M. (2013). *INCIDENCIA DE LAS INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN EMBARAZADAS DE 18 A 30 AÑOS*. Recuperado el 17 de Enero de 2016, de Repositorio Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1843/1/TESIS%20DE%20INFECCION%20DE%20VIAS%20URINARIAS%20-%20MARIA%20PAUCARIMA.pdf>
- Picazo, J. J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Barcelona. Recuperado el 7 de noviembre de 2016, de http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf
- Pigrau, C. (2013). *Infección del tracto urinario*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de Salvat: <http://www.salvatbiotech.com/Content/Media/446b5d682b4147f69509c8205d2e4d22/LibroInfeccionTratoUrinario.pdf#page=8>
- Pilapanta, E. (2015). *INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN EMBARAZADAS ATENDIDAS EN EL HOSPITAL DOCENTE AMBATO DURANTE EL PERIODO JUNIO -DICIEMBRE DEL 2014*. Recuperado el 18 de Enero de 2017, de Repositorio Digital Universidad de Ambato: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/1023/1/TUAMED072-2015.pdf>
- Pinheiro, P. (19 de mayo de 2016). *EXAMEN DE ORINA – LEUCOCITOS, SANGRE, PH*. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de MD.Saudé: <http://www.mdsaude.com/es/2015/10/analisis-de-orina.html>
- Puerta, A., & Mateos, F. (2010). *Enterobacterias*. Recuperado el 18 de octubre de 2016, de FACMED: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicina2010.pdf
- Rocchi, M., & Gasparotto, A. (2007). *Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario: análisis de cinco años*. Recuperado el 18 de octubre de 2016, de Revista Argentina de Microbiología: <http://www.brizuela-lab.com.ar/resumenes/bacteriemias.pdf>
- Rocha, C., Reynolds, N., & Simons, M. (2015). *RESISTENCIA EMERGENTE A LOS ANTIBIÓTICOS: UNA AMENAZA GLOBAL Y UN PROBLEMA CRÍTICO EN EL CUIDADO DE LA SALUD*. Recuperado el 2017, de Rev Peru Med Exp Salud Publica: <http://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/v32n1/a20v32n1.pdf>
- Rodríguez, A. (17 de abril de 2002). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. Recuperado el 28 de octubre de 2016, de Salud pública de México: http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf



- Rodriguez, R., & Salgado, F. (2014). "PREVALENCIA DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO EN MUJERES EMBARAZADAS QUE ASISTEN AL CONTROL PRENATAL DEL SUBCENTRO DE SALUD CARLOS ELIZALDE". Recuperado el 2 de noviembre de 2016, de Repositorio digital Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5564/1/TESIS.pdf>
- Romero Cabello, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana* (3era ed.). (M. Panamericana, Ed.) Mexico DF. Recuperado el 23 de octubre de 2016, de <https://books.google.com.ec/books?id=Wv026CUhR6YC&printsec=frontcover&dq=enterobacterias+pdf&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwi92KXByNbQAhUBcyYKHT-hDnc4ChDoAQg6MAU#v=onepage&q&f=false>
- Salgado, P. (2015). *Tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas*. Obtenido de Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Universitario La Paz, Madrid.: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/sup1/salgado.pdf>
- Santambrosio, E. (2009). "Tinción y observación de microorganismos.". Rosario. Recuperado el 30 de octubre de 2016, de https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practico4.pdf
- Soto, C. (2013). *Manual de toma de muestra*. Santiago, Chile. Recuperado el 18 de octubre de 2016, de <http://www.labsotero.cl/Manual/ManualProcedimientos.pdf>
- Swapan, N., & Revankar, S. (2007). *Microbiología basada en la resolución de problemas*. Madrid: Elsevier. Recuperado el 19 de Noviembre de 2016
- UANL. (2013). *Antibiograma por el método de difusión en agar (Bauer-Kirby)*. Mexico DF. Recuperado el 5 de noviembre de 2016, de <http://www.medicina.uanl.mx/hu/2013/08/26/antibiograma-por-el-metodo-de-difusion-en-agar-bauer-kirby/>
- Wein, A., Kavoussi, L., & Col. (2007). *UROLOGIA* (9na ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana. Recuperado el 1 de noviembre de 2016, de https://books.google.com.ec/books?id=ONKWVHU5SNMC&pg=PA229&dq=factores+de+virulencia+e+coli&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjFzbaNpejQAhUD OyYKHe__AqEQ6AEIKjAD#v=onepage&q=factores%20de%20virulencia%20e%20coli&f=false



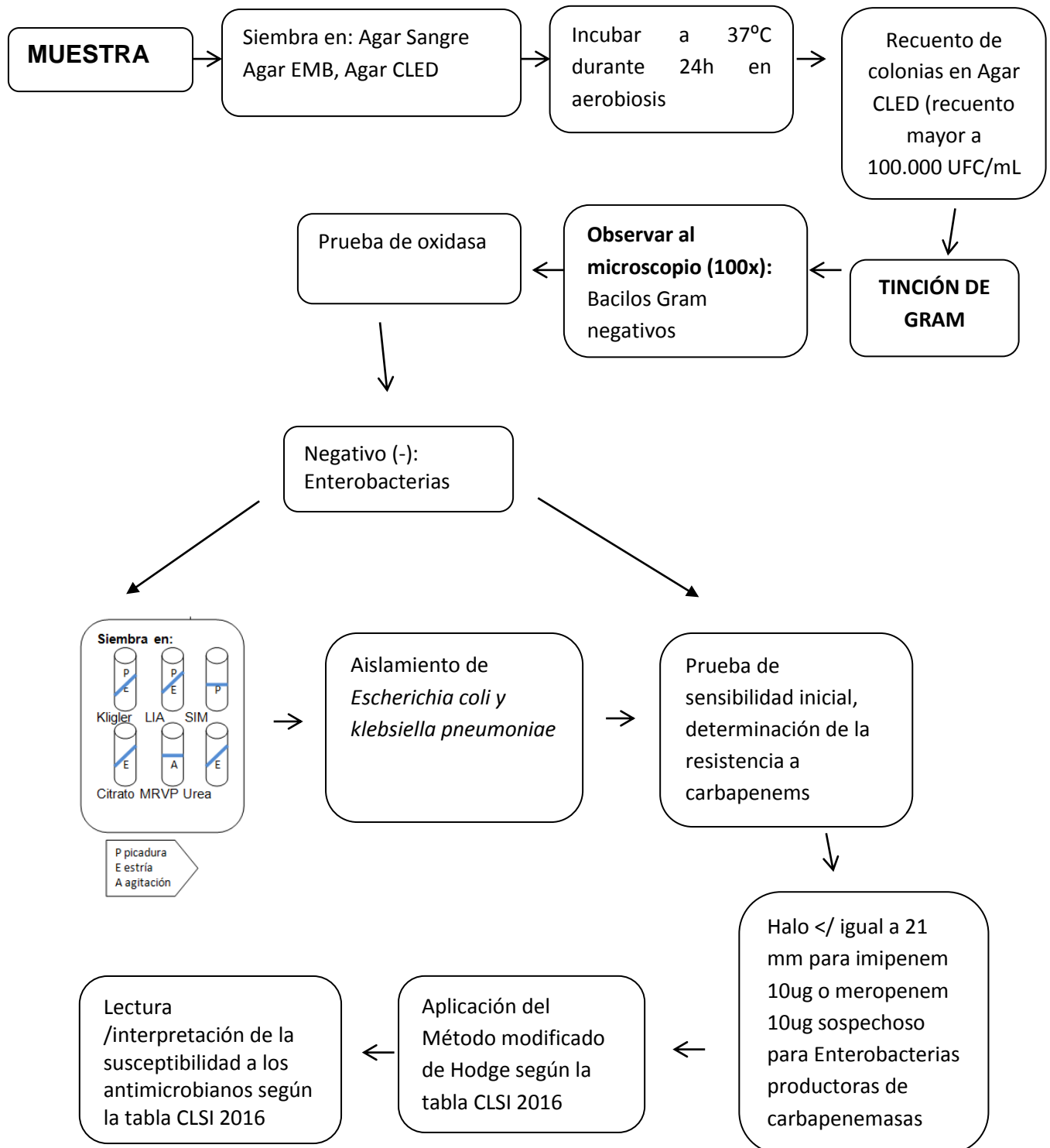
ANEXOS

ANEXO 1: CRITERIOS DE CALIDAD PARA UROCULTIVO

La orina al ser una sustancia biopeligrosa requiere de precauciones estándares como son:

- Las muestras deben recolectarse en recipientes estériles y a prueba de pérdidas.
- Los recipientes deben tener boca ancha, fondo amplio y plano para facilitar la recolección en las mujeres.
- Los recipientes deben ser de un material transparente para la determinación del color y de la claridad.
- La capacidad que se recomienda del recipiente es de 50ml.
- Debe recolectarse al menos de 5 – 10 ml de orina.
- Todas las muestras deben estar rotuladas en forma apropiada con el nombre del paciente, número de identificación, fecha y hora de recolección.
- Los rótulos deberán pegarse en el recipiente, no en la tapa, y no deben desprenderse si el recipiente se refrigera.
- Un formulario de solicitud (manual o computarizado) debe acompañar a la muestra entregada al laboratorio, la información en el formulario debe coincidir con la del rótulo del paciente.
- En el caso de que el análisis no se realice en ese momento, la muestra de orina debe refrigerarse de 4-8 °C inmediatamente después de ser recolectada por un tiempo máximo de 24 horas. (King, 2008)

ANEXO 2: ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO



ANEXO 3.- SIEMBRA EN AGAR SANGRE Y EMB

En estos medios la siembra se realizó por el método de siembra por agotamiento para producir colonias aisladas en cajas bipetri usando asas descartables. Se incubaron las cajas invertidas, a 37 °C durante 24 horas y en condiciones de aerobiosis.

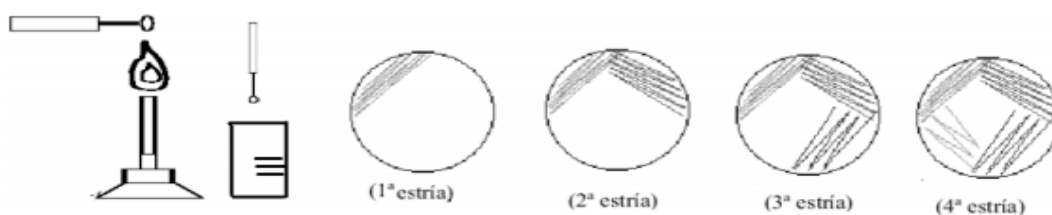


Figura 1: Siembra en agar EMB y agar sangre (Ortiz & Méndez, 2013)

ANEXO 4.- SIEMBRA EN AGAR CLED

En este medio la siembra se realizó por el método de estriación con un asa calibrada para producir colonias aisladas y poder realizar el recuento de colonias. Se empleó un asa de orina desechable de 0.001 mL. Se introdujo el asa de manera vertical en la muestra de orina y posteriormente se extendió sobre el centro de la superficie de la caja con agar cled en línea recta, luego se rozó la siembra anterior haciendo nuevas estrías. Las cajas se incubaron invertidas, a 37 °C durante 24 horas y en condiciones de aerobiosis.

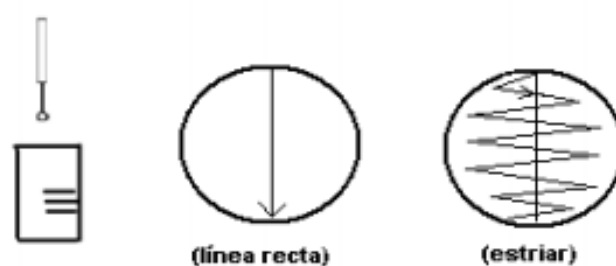


Figura 2: Siembra en agar CLED (Ortiz & Méndez, 2013)



ANEXO 5.- PRUEBAS BIOQUÍMICAS

SIEMBRA EN AGAR KLIGER

Técnica

Inocular los tubos con asa de platino: primero por picadura en el fondo del tubo y a continuación una siembra en estría en la superficie inclinada. Incubar a 37 °C durante 24 horas en aerobiosis.

Interpretación y reporte

A: ácido-amarillo
K: alcalino-rojo

1.-Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa (K/A).

2.-Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, y lactosa (A/A).

3.-Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares (K/K).

4.-La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.

5.-El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico (H₂S). (Britanialab, Kligler Hierro Agar, 2010)



SIEMBRA EN LISINA-HIERRO AGAR

Técnica

Inocular primero por picadura en el fondo del tubo y a continuación una siembra en estría en la superficie inclinada a partir de una colonia del cultivo del microorganismo en estudio e incubar 24 horas a 37 grados C.

Interpretación

A: Reacción ácida. Color amarillo

K: Reacción alcalina. Color violeta

R: Reacción alcalina: color rojo

Reporte

1.-Descarboxilación de la lisina:

-Prueba Positiva: Pico violeta/fondo violeta (K/K)

-Prueba Negativa: Pico violeta/fondo amarillo. (K/A)

2.-Desaminación de la lisina:

Pico rojizo/fondo amarillo (R/A). Esto sucede con cepas del género *Proteus*, *Providencia* y algunas cepas de *Morganella spp.*

3.-Producción de ácido sulfhídrico: Prueba positiva: ennegrecimiento del medio especialmente en el límite del pico y fondo. (Britanialab, 2010)



SIEMBRA EN SIM (SULFURO-INDOL-MOTILIDAD)

Técnica

A partir de un cultivo de 18-24 horas en medio sólido sembrar por punción profunda con asa de inoculación recta; se debe inocular en el centro del tubo y la punción debe abarcar 2 tercios de profundidad del medio de cultivo desde la superficie. Es importante que la siembra se realice en línea recta.

Incubar durante 24 horas, a 35-37 °C, en aerobiosis; luego de la incubación, agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovac's o de Erlich.

Interpretación

- Cepas móviles: producen turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra.
- Cepas inmóviles: el crecimiento se observa solamente en la línea de siembra.
- Cepas H₂S positivas: ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.
- Cepas H₂S negativas: el medio permanece sin cambio de color.
- Cepas indol positivas: desarrollo de color rojo luego de agregar el reactivo de Kovac's o de Erlich.
- Cepas indol negativas: sin cambio de color. (Britanialab, 2010)

SIEMBRA EN AGAR UREA

Técnica

Inocular sobre la superficie del agar en estría, incubar a 37° C por 24-48 horas.

Interpretación

- Microorganismos que hidrolizan la urea: el medio de cultivo vira a color rosado-rojizo.
- Microorganismos que no hidrolizan la urea: el medio de cultivo permanece de color amarillo. (Britanialab, 2010)



SIEMBRA EN CITRATO AGAR

Técnica

A partir de un cultivo puro de 18-24 horas, estriar la superficie del medio de cultivo.

Incubar a 35-37 °C, durante 24-48 horas en aerobiosis.

Interpretación

-Resultado positivo: crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad.

-Resultado negativo: el medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano y no hay cambio de color. (Britanialab, 2010)

SIEMBRA EN MEDIO RMVP

Técnica

Siembra por inoculación directa, a partir del cultivo en estudio. Incubación en aerobiosis, a 35-37°C por 48 horas.

Revelado de pruebas bioquímicas

a-Prueba del rojo de metilo:

Añadir unas gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04%, observar el color del medio.

Interpretación:

Positivo: color rojo.

Negativo: color amarillo.



b-Prueba del Voges Proskauer:

Añadir 0,6 ml de alfa naftol al 5% en alcohol etílico absoluto y 0.2 ml de hidróxido de potasio al 40% a 2.5 ml de cultivo. Agitar vigorosamente el tubo, y dejar a temperatura ambiente durante 10-15 minutos; observar el color de la superficie del medio.

Interpretación

Positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo.

Negativo: ausencia de color rojo. (Britanialab, 2010)

PRUEBA DE OXIDASA

Técnica

Tomar del medio de cultivo de Agar Sangre una colonia aislada con la ayuda de un palillo de madera. La colonia se coloca sobre la zona de la tira reactiva y se frota, se espera 10 - 15 segundos para comparar con la escala colorimétrica

Interpretación

Las colonias bacterianas con actividad de citocromo-oxidasa dentro del tiempo esperado toman un color azul intenso en el sitio de la prueba, mientras en el caso de ser negativo no hay un cambio en la coloración de la tira reactiva. (Diagnostics, 2012)

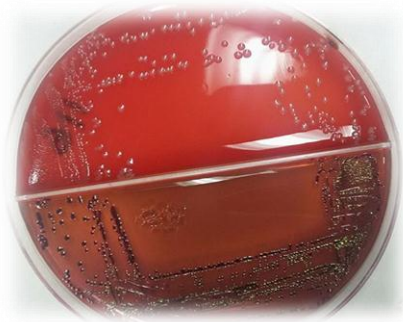
Ilustraciones

Ilustración 1: Recipiente utilizado en el transporte de muestras



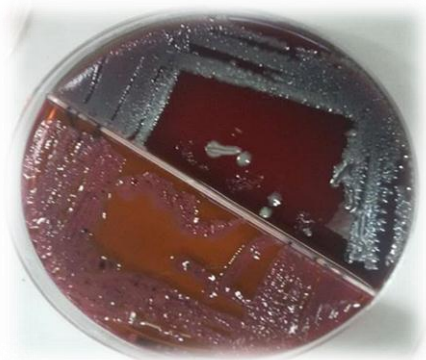
FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 2: Colonias de *Escherichia coli* en Agar Sangre y EMB



FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 3: Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en Agar Sangre y EMB



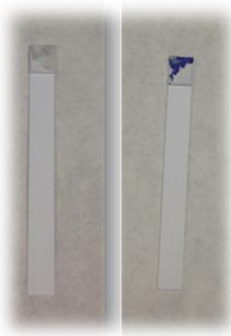
FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 4: Recuento de colonias en agar CLED mayor a 100.000 UFC/mL



FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 5: Prueba de Oxidasa Positiva (Azul) y Negativa (sin color)



FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 6: Pruebas Bioquímicas para *Escherichia coli*



Interpretación:

A: Agar Citrato negativo (color verde)

B: Agar Kligler (A/A)

C: Agar LIA (K/K)

D: Agar Urea negativo (color amarillo)

FUENTE: Registro de laboratorio

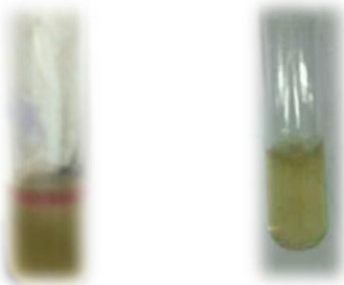
Ilustración 7: Pruebas Bioquímicas para *Klebsiella pneumoniae***Interpretación:**

- A:** Agar Citrato positivo (color azul)
- B:** Agar Kligler (A/A)
- C:** Agar LIA (K/K)
- D:** Agar Úrea positivo (color rosado)

FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 8: Pruebas de Rojo de Metilo positiva para *Escherichia coli* (Roja) y negativa para *Klebsiella pneumoniae* (Amarilla).

FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 9: Prueba de Indol positivo para *Escherichia coli* (Anillo rosado), Indol negativo para *Klebsiella pneumoniae* (sin color)

FUENTE: Registro de laboratorio

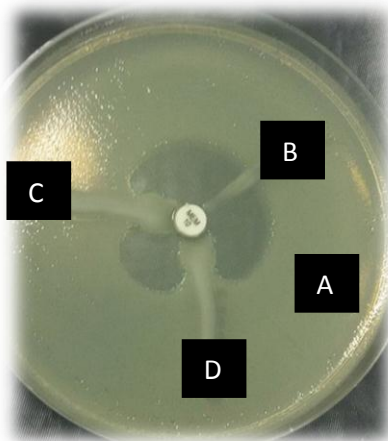
Ilustración 10: Prueba presuntiva de carbapenemasas positiva

Resultado: Halo menor o igual a 21mm para imipenem y meropenem.

FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración 11: Cepas utilizadas para la prueba confirmatoria de carbapenemasas

FUENTE: Registro de laboratorio

Ilustración: 12: Prueba confirmatoria de carbapenemasas positiva**Interpretación**

A: *E. coli* ATCC 25922.

B: *K. pneumoniae*, control negativo.

C: *K. pneumoniae* ATCC 1705, control positivo.

D: *K. pneumoniae*, muestra aislada.

Resultado: Se observa una distorsión del halo en la zona de inhibición de las cepas indicadoras C y D así como también un crecimiento mejorado de dichas cepas; siendo un resultado positivo para carbapenemasas.

FUENTE: Registro de laboratorio