



**UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
METROPOLITANA**

**División: Ciencias Biológicas y de la salud.**

**Departamento de sistemas biológicos.**

**Lic. Química Farmacéutica Biológica**

**Lugar de realización: Hospital General Dr. Manuel Gea González**

**Solicitud de proyecto para servicio social**

**Estudio observacional de los patrones de resistencia de bacterias identificadas en urocultivos en mujeres en edad adolescente, reproductiva y avanzada de hospitalización y consulta externa del hospital general Dr. Manuel Gea González.**

#### **Asesores**

- Asesor: M. en C Francisco López Naranjo  
No. Económico: 18198
- Asesor: QBP David Moncada Barón  
No. Económico: 1367

Alumna: Cecilia Arcos Zavaleta  
Matricula: 2142030780

Fecha de inicio:  
05/febrero/2019

Fecha de término:  
05/agosto/2019

CDMX Febrero 2020

## Resumen:

Las infecciones de vías urinarias (ITU) son una de las anormalidades más frecuentes en mujeres, donde las bacterias implicadas crean resistencia con el paso de los años. (Comite de microbiología clínica, 2001)

La resistencia a antibióticos aumenta, por lo que es de vital importancia un estudio que demuestre el impacto reciente que hay sobre las bacterias.

En el hospital general Dr. Manuel Gea González acuden pacientes de diferentes regiones del país, por lo que los resultados obtenidos son representativos para conocer las bacterias responsables de las ITU, así como su resistencia a determinados antibióticos.

El **objetivo** de este trabajo es clasificar y comparar patrones de resistencia de bacterias identificadas en urocultivos en mujeres en edad adolescente, reproductiva y avanzada de hospitalización y consulta externa del hospital general Dr. Gea González, identificando a la bacteria que se presenta con mayor frecuencia analizando su resistencia y sensibilidad a antibióticos.

Como **hipótesis** se estima que la resistencia va en aumento con el paso de los años gracias a la automedicación y mal uso de los antibióticos.

Esto se comprueba usando como **metodología** la obtención de muestras de orina, para después procesarlas en equipos automatizados vitek, sembrando la muestra en medios de cultivo específicos, para después identificar la bacteria mediante espectrometría de masas Maldi-Tof, obteniendo su susceptibilidad a diferentes antibióticos con tarjetas reactivas Vitek.

El **resultado** fue que *Escherichia coli* es la bacteria frecuentemente aislada en urocultivos, predominando en mujeres de edad avanzada. Además que la resistencia al tratamiento con antibióticos es cada vez mayor, ya que al compararse con estudios anteriores a este, se encontró que *Escherichia coli* era sensible en más de un 90 % a antibióticos como cefuroxima y gentamicina y con el paso de los años estos disminuyeron su efectividad por debajo del 77%.

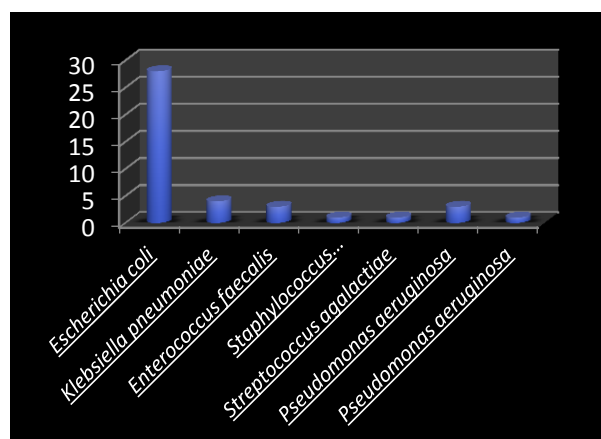


Gráfico: *Escherichia coli*, la bacteria encontrada con mayor frecuencia en urocultivos de mujeres.

Tomando en cuenta que para poder considerar un antibiótico como tratamiento en la población mexicana, el rango de sensibilidad recomendado debe ser igual o mayor a 80%, los antibióticos mencionados ya no son aptos para un tratamiento eficaz. (Ernesto Calderón-Jaimes, 2013)

Como **conclusión** cabe mencionar que la identificación de la bacteria mediante urocultivos cuando se sospecha de ITU es una práctica importante que conduce al médico a tratar infecciones con antibióticos que eliminen la bacteria y así evitar la resistencia a estos por la prescripción de un tratamiento erróneo.

## **Bibliografía**

- 1) Comité de microbiología clínica. (2001). Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. . Sociedad chilena de infectología, 18, 57-63.
- 2) Ernesto Calderón-Jaimes, Gerardo Casanova-Román, Arturo Galindo-Fraga, Pablo Gutiérrez-Escoto, Sergio Landa-Juárez, Sarbelio Moreno-Espinosa, Francisco Rodríguez-Covarrubias, Luis Simón-Pereira, Rafael Valdez-Vázquez. (2013). Diagnóstico y tratamiento de las infecciones en vías urinarias: un enfoque multidisciplinario para casos no complicados. Bol Med. Hosp. Infant. Mex, 70, 3-10.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de vías urinarias (ITU) son una de las anormalidades más frecuentes y causa de incremento de la morbilidad tanto en el hospital como en la comunidad. (Comite de microbiología clínica, 2001)

La ITU representa la primera causa de consulta médica en mujeres en edad reproductiva. En 2010, la Secretaría de Salud reportó 1, 204,032 casos en adultos de 25 a 44 años de edad, con una tasa de incidencia de 3,000 por cada 100,000 habitantes. En pacientes mayores de 60 años, la tasa de incidencia fue de 6,000 por cada 100,000 habitantes, con predominio en el sexo masculino. (Lopardo, 2019)

Las mujeres jóvenes están involucradas en más de 7.000.000 casos por año, relacionado con el inicio de la actividad sexual, y en la mayoría ocurren dentro de las 48 horas posteriores al coito. Aproximadamente 1 de cada 3 mujeres requerirán tratamiento antibiótico por una ITU antes de los 24 años, y el 40-50% tendrán una ITU en algún momento de su vida.

La frecuencia de aislamiento de patógenos y la resistencia bacteriana varían en grado amplio según sean las diferentes regiones geográficas, incluso entre hospitales del mismo país y ciudad. La Organización Mundial de la Salud ha considerado la emergencia y diseminación de la resistencia antimicrobiana como un problema prioritario y por ello desde septiembre de 2001 se instituyó una medida global para la contención de la resistencia antimicrobiana (Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance), que incluye como medida fundamental la vigilancia de la sensibilidad antimicrobiana.

Por eso es importante dar a conocer los patrones y tendencias de sensibilidad a antibióticos, sobre todo en mujeres, ya que son más susceptibles a adquirir infecciones, para aplicar o intensificar medidas estrictas de vigilancia y control del uso de los antibióticos.

Conocer las principales bacterias aisladas, así como los patrones de resistencia, permite determinar la variación que existe entre las diferentes especies bacterianas y orientar el inicio empírico de antibióticos con mayores elementos de acierto.

Los exámenes que buscan bacteriuria en la mujer, como el urocultivo han determinado su presencia en 1% de las niñas adolescentes (10 a 14 años de edad); después de iniciada la actividad sexual la incidencia sube a 4% en la mujer adulta joven en edad reproductiva (15 a 44 años de edad) y posteriormente aumenta entre 1 y 2% por cada década de vida (edad avanzada 60 años o mayores). (OMS, 2018)

## 2. JUSTIFICACION:

La resistencia a los antibióticos está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. Día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro nuestra capacidad para tratar las ITU, debido a la resistencia bacteriana y/o falta de efectividad de los antibióticos

Este estudio se llevó a cabo en el hospital general Dr. Manuel Gea González, ya que es un hospital en el que los pacientes que acuden son de diferentes regiones del país, por lo que los resultados obtenidos son representativos para conocer los microorganismos responsables de las ITU, así como su resistencia a determinados antibióticos para ayudar a orientar al médico para una prescripción adecuada cuando se comienza con un tratamiento de primera línea.

## 3. OBJETIVOS

### ➤ General

Clasificar y comparar patrones de resistencia de bacterias identificadas en urocultivos en mujeres en edad adolescente, reproductiva y avanzada de hospitalización y consulta externa del hospital general Gea González.

### ➤ Particular

\*Identificar el microorganismo que se presenta más frecuentemente aislado en urocultivos de mujeres en edad adolescente, reproductiva y avanzada

\*Analizar sensibilidad y resistencia a los antibióticos en las poblaciones descritas

## 4. MARCO TEÓRICO:

La infección del tracto urinario (ITU) es la infección bacteriana más común en humanos, producida por un número importante de bacterias conocidas como especies uropatógenas.

### Vías de infección:

\*Ascendente. Es la vía más frecuente. La colonización periuretral y del vestíbulo vaginal es la fuente de donde proceden los gérmenes. La existencia de sondas o traumatismos urinarios produce una migración de las bacterias por la uretra, lo que conduce a una colonización y multiplicación vesical pudiendo alcanzar el riñón.

El hecho de que la uretra en la mujer sea más corta que en varones y exista menor distancia entre meato uretral y ano, explica que las infecciones urinarias sean más frecuentes en el sexo femenino, apoyando la importancia de esta vía. (JN, 2002)

Cabe mencionar que la manera incorrecta del aseo genital en mujeres después de ir al baño es una causa muy frecuente de infección, ya que hay un arrastre de materia fecal a las vías urinarias.

### Clasificación de las infecciones en las vías urinarias sintomáticas de acuerdo con su localización

- Infección en las vías urinarias inferiores o cistitis: se trata de infecciones localizadas solo en las vías urinarias inferiores (uretra, vejiga). Los síntomas más sobresalientes son los relacionados con la micción, como la disuria, polaquiuria, tenesmo e incontinencia urinaria.
- Infección en las vías urinarias superiores o pielonefritis aguda: infecciones que alcanzan las vías urinarias superiores (uréter, sistema colector, parénquima renal) con inflamación. El síntoma sobresaliente, en particular en el niño pequeño y en el lactante, es la fiebre.

Desde el punto de vista macroscópico el riñón muestra segmentos de tejido inflamados e, histológicamente, una inflamación en el parénquima y túbulos renales, con edema. Esta clasificación es decisiva en la clínica porque la pielonefritis aguda puede llevar a secuelas importantes como un daño renal progresivo.

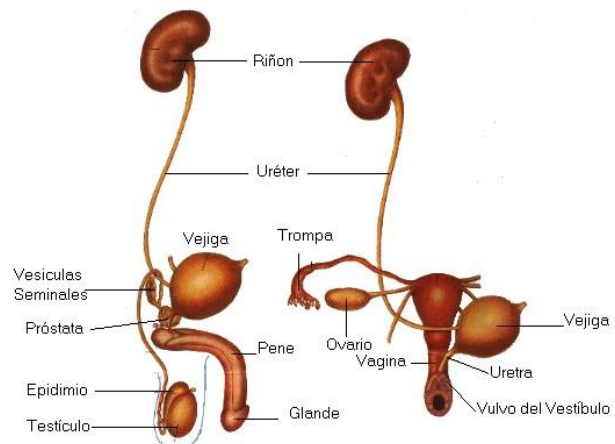


Imagen N° 1 Se muestra la anatomía del sistema urinario sano de hombre y mujer

La cistitis casi siempre es un proceso benigno y sin complicaciones posteriores. En consecuencia, la pielonefritis aguda requiere un tratamiento más agresivo. (JN, 2002)

### Infecciones en las vías urinarias asintomáticas:

La bacteriuria asintomática se definió como la colonización de la orina por un germen con un número significativo de colonias y en ausencia total de síntomas urinarios y generales. Naturalmente, se confirmó que esta circunstancia podía ocurrir, asimismo, en la infancia. (García Nieto, 2011)

El método comúnmente utilizado para la identificación de la ITU es mediante el urocultivo.

El urocultivo es el cultivo de orina utilizado para diagnosticar infección sintomática o asintomática del tracto urinario. Es un método que se lleva a cabo en el laboratorio de microbiología clínica que sigue manteniendo su vigencia y utilidad, no sólo por ser sencillo y barato, sino porque establece un diagnóstico certero que identifica al agente causal, permitiendo conocer la sensibilidad de dichos patógenos a los antimicrobianos y confirma la curación bacteriológica.

El urocultivo solo debe practicarse en pacientes con fiebre que persiste más allá de las 72 horas posteriores al inicio del tratamiento. El urocultivo se recomienda cuando hay sospecha de pielonefritis, síntomas persistentes o que recurren en las primeras 2 a 4 semanas de haber concluido el tratamiento y en caso de síntomas atípicos. (Dra. Carmen Marín, 2015)

**Obtención de la muestra:** Se considera una etapa crucial en el procesamiento de los urocultivos ya que la posibilidad de contaminación con bacterias de la flora comensal de piel, periné y uretra distal, es muy alta e induce a la generación de falsos positivos.

El método utilizado para la obtención de la muestra es Orina de segundo chorro: Se debe orinar el primer chorro en la tasa y el segundo se debe depositar en un frasco especial para orina que después deberá ser entregado al personal del laboratorio. Se requiere de un aseo genital previo a la toma de muestra con agua y jabón. (Lopardo, 2019)

Es importante contar con los datos necesarios del paciente para evitar errores a la hora de procesar la muestra cómo;

- Nombre, edad y sexo del paciente
- Si es mujer, indicar la presencia de embarazo.
- Existencia de patología de la vía urinaria
- Método empleado en la recolección de la muestra
- Diagnóstico clínico
- uso previo de antibióticos
- Hora de obtención de la muestra

(Comite de microbiologia clínica, 2001)

**Sembrado de la muestra:** La inoculación automatizada o manual en medios de cultivo permiten el desarrollo de microorganismos.

El método más utilizado en este hospital es la inoculación automatizada que intenta resolver problemas de calidad y estandarización de la estría o inóculo, contaminación cruzada, tiempo de procesamiento y costos.

La muestra de urocultivo se siembra en dos placas, agar gelosa sangre y agar cromogénico mediante un equipo automatizado que inocular una cantidad de muestra estandarizada utilizando una peineta para la siembra para contar el número de colonias (UFC) en la placa. (Herve, 2015)

O en su defecto, la siembra también puede llevarse a cabo manualmente, sembrando las placas una por una.

-Agar gelosa sangre: Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos. Al ser suplementado con sangre ovina, permite el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.

Permite así mismo determinar la capacidad de algunas bacterias de producir enzimas extracelulares que actúan sobre los glóbulos rojos para la clara visualización de reacciones de hemolisis que es un factor de virulencia.

\*Hemolisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos, se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina por el peróxido de hidrogeno generado por los microorganismos

\*Hemolisis Beta: lisis total de los glóbulos rojos, se observa un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.

\*Hemolisis Gamma: Ausencia de lisis de los glóbulos rojos, el medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio. (Britania, 2015)

-Agar Cromogénico: Es un medio no selectivo para el aislamiento, identificación directa, diferenciación y recuento de patógenos de las vías urinarias.

Se basa en reacciones enzimáticas que dan color a las colonias de los organismos para una detección simultánea de los coliformes y E. coli Además, la identificación de la mayoría de las cepas de *Staphylococcus saprophyticus* y *S. agalactiae*, así como también los grupos de Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Morganella y Providencia.

La mezcla de cromógenos está formada por sustratos artificiales que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas microbianas específicas, por lo que se asegura la diferenciación directa de determinadas especies o la detección de ciertos grupos de organismos, con sólo un mínimo de pruebas de confirmación.

Tabla 1: control de calidad para el uso de agar cromogénico

<b>Cepas</b>	<b>Resultados del crecimiento</b>
<u><i>Escherichia coli</i></u> ATCC 25922	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de medianas a grandes, de color rosado oscuro a rosa transparentes.
<u><i>Enterobacter cloacae</i></u> ATCC 13047	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de tamaño mediano, de color azul intenso con o sin halos violetas
<u><i>Proteus mirabilis</i></u> ATCC 14153	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de tamaño mediano de color pálido a beige, rodeadas de un halo de color ámbar a marrón en zonas de crecimiento denso. El medio puede ser de color ámbar a marrón. La proliferación esta parcial o completamente inhibida.



<u><i>Enterococcus faecalis</i></u> ATCC 29212	Crecimiento de bueno a excelente, colonias pequeñas de color azul a azul verdoso.
<u><i>Streptococcus agalactiae</i></u> ATCC12386	Crecimiento regular a bueno, colonias de disminuidas a pequeñas de color azul claro verdoso a azul claro, con o sin halos.
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u> ATCC 25923	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de medianas a pequeñas con color blanco a crema
<u><i>Staphylococcus saprophyticus</i></u> ATCC 15305	Crecimiento de regular a bueno, colonias pequeñas, opacas de color rosa claro a rosado
Sin inocular	De incoloras a ámbar claro, transparentes

Esta tabla muestra el crecimiento de diferentes bacterias de la colección ATCC en agar cromogénico para diferenciación o selección de acuerdo a las características fenotípicas que garantizan la identidad del microorganismo.

ATCC: American Type Culture Collection

Tabla 2: directrices para la identificación basada en diferencias de coloración de las colonias

<b>organismo</b>	<b>Aspecto en el agar cromogénico</b>
<u><i>E. coli</i></u>	Colonias de tamaño mediano a grande, de rosado oscuro a rosa transparentes, con o sin halos en el medio circundante
Grupo KES	Colonias medianas, de color azul a azul oscuro, con o sin halos violetas
Grupo PMP	Colonias de pálidas a beige, rodeadas de halos marrones.
<u><i>Enterococcus</i></u>	Colonias pequeñas de color azul verdoso
<u><i>S. agalactiae</i></u>	Colonias de diminutas a pequeñas, de color azul claro verdoso, con o sin halos.
<u><i>S. saprophyticus</i></u> (la mayoría de las cepas)	Colonias pequeñas opacas de color rosa claro o rosado, con o sin halo.
Otras (incluidas levaduras)	Pigmentación natural (crema)

KES = grupo Klebsiella-Enterobacter-Serratia c PMP = grupo Proteus-Morganella-Providencia

Esta tabla muestra el crecimiento de diferentes bacterias en agar cromogénico para diferenciación o selección de acuerdo a sus características fenotípicas que garantizan la identidad del microorganismo comparándolas con una bacteria ATCC.

(BD CHROMagar Orientation Medium, 2011)

## Recuento e interpretación de los resultados

Contar el número de colonias (UFC) en la placa. Si se utiliza un asa de 0,01 mL, cada colonia resultante representa 100 UFC/mL; si se utiliza un asa de 0,001 mL, cada colonia corresponde a 1000 UFC/mL de orina.

Para que un urocultivo se considere positivo se requiere la presencia de un número significativo de bacterias (generalmente > 100.000 bacterias/ml.). (Comite de microbiología clínica, 2001)

**Identificación de la bacteria:** El análisis proteómico de microorganismos por espectrometría de masas es una metodología confiable, económica y rápida, que muestra resultados confiables al compararlo con métodos convencionales

La espectrometría de masas es un método que permite la identificación de una molécula mediante la medición de su masa en relación a su carga (relación masa/carga), así como la de los fragmentos generados a partir de ella. (Herve, 2015)

La identificación se realiza a partir de una colonia aislada del microorganismo en estudio, la que es aplicada sobre una placa de metal pulido re-utilizable.

Sobre dicha colonia se aplica una matriz en solución (generalmente una solución saturada de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico, acetonitrilo y ácido trifluoroacético) la que se cristaliza al dejarse secar a temperatura ambiente. Esta matriz cumple dos roles fundamentales; primero expone las proteínas intracelulares mediante la ruptura de la membrana celular y segundo, facilita la vaporización y la ionización de las proteínas mediante un haz de laser pulsante.

Una vez ionizadas estas proteínas viajan por una cámara de vacío siendo detectadas al final. Dependiendo de la relación masa/carga de cada fragmento será el tiempo que ésta demore en llegar al final. Este “tiempo de vuelo” es utilizado para construir el espectro específico de las masas

Cada vez que se requiere realizar una identificación, debe realizarse una calibración que se lleva a cabo de manera automática utilizando un estándar comercial. Una vez calibrado, la identificación de cada muestra toma uno a dos minutos

Los espectros obtenidos son comparados automáticamente con un archivo y el resultado es entregado automáticamente.

Dado que un microorganismo analizado con espectrometría de masas tendrá siempre el mismo espectro, se han diseñado archivos con los espectros de masas de la fragmentación de péptidos y proteínas que presentan los distintos microorganismos para una misma emisión del láser y una misma distancia de migración

La identificación se realiza a través de la comparación del resultado de una bacteria con todos los espectros de masas que contiene el archivo comercial proporcionado por el

fabricante, y de acuerdo a puntos de corte definidos para estas correlaciones. (Patricia García, 2011)

**Susceptibilidad:** Cada vez es más necesario detectar de manera precisa la existencia de mecanismos de resistencia con importancia epidemiológica, como son: Enterococcus resistentes a vancomicina, S. aureus meticilino resistente y sensibilidad reducida a vancomicina, enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) o productoras de carbapenemasas.

Este método de sensibilidad utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos. Las tarjetas reactivas tienen 64 pozos que contienen cada una un antibiótico de prueba individual que se aproxima a una concentración mínima inhibitoria, también contienen sustratos que miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras. Las tarjetas son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano mediante una bomba de vacío

Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada.

Cada tarjeta tiene un tubito de transferencia pre-insertado en una base para la inoculación que se debe ajustar hasta obtener una turbiedad a 0.50-0.63 unidades de la escala de McFarland con un densitómetro

Estas tarjetas tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema.

Existen 4 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos
3. YST – Levaduras y organismos levaduriformes
4. BCL – Bacilos formadores de esporas Gram positivos.

Una vez dentro del equipo, las muestras se someten a los siguientes procesos de forma automática:

\* Inoculación: Las muestras son transportadas a una cámara en la que se aplica vacío y en seguida se reintroduce nuevamente el aire, ésta acción hace que la suspensión bacteriana pase a través del tubo de transferencia hacia los microcanales que llenan todos los pozos.

\* Sellado e incubación de las tarjetas. Las tarjetas inoculadas pasan por un mecanismo que corta los tubos de transferencia y las sella, previo a la carga dentro del carrusel-incubador. Todos los tipos de tarjetas se incuban en línea a  $35.5 \pm 1.0^\circ \text{C}$ .

\*Lectura de las reacciones. Cada tarjeta es removida del carrusel-incubador cada 15 min, transportada al sistema óptico de transmitancia el que usa diferentes longitudes de onda del espectro visible para interpretar las reacciones de turbiedad o el color de los productos metabólicos, y devuelta a su sitio en el carrusel hasta el siguiente tiempo de lectura. Los datos son registrados a intervalos de 15 min durante el periodo de incubación total.

\* Base de datos. Las bases de datos de los productos de identificación están contruidos con un gran número de cepas de microorganismos perfectamente caracterizados y probados bajo varias condiciones de cultivo. Estas cepas provienen de una variedad de fuentes clínicas e industriales, así como de colecciones de cultivo públicas (Ejem.: ATCC) y universitarias. (Herve, 2015)

### **Material**

- Frasco estéril para orina
- Tubo para urocultivo con conservador
- Palillos estériles
- Pipeta volumétrica de 1  $\mu$ l
- Tarjetas reactivas para sensibilidad
- Tubos de ensaye de poli estireno
- Placa de metal pulido

### **Reactivos**

- Placas de agar gelosa sangre
- Placas de agar cromogénico
- Matriz

### **Equipo**

- Equipo de siembra automatizado
- Densitómetro
- Espectro de masas
- Equipo para sensibilidad
- Incubadora

## 5. Procedimiento

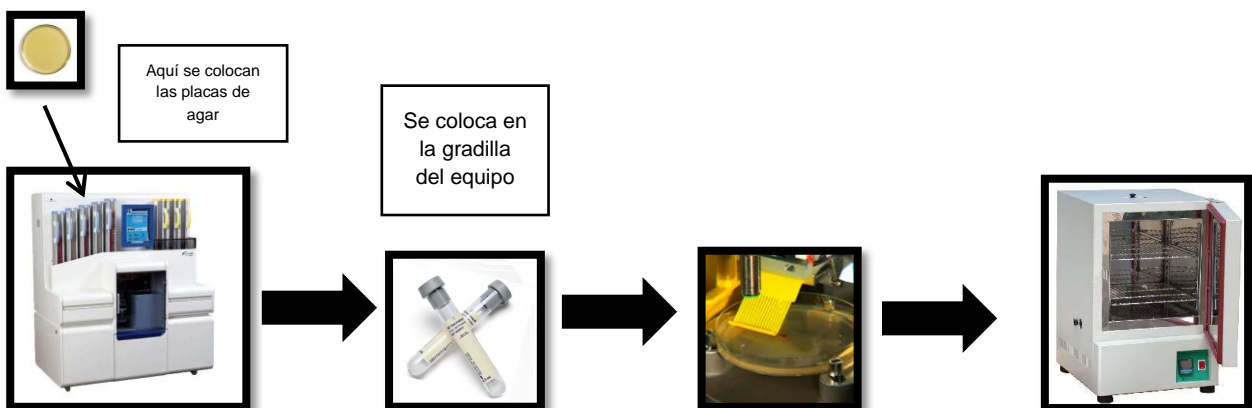
### Obtención de la muestra:

1. El paciente debe entregar la muestra obtenida mediante método de segundo chorro y entregarla al personal del laboratorio en un frasco estéril para orina.
2. El personal del laboratorio debe pasar la muestra en un tubo para urocultivo y mezclarlo bien para que se disuelva el conservador del tubo.



### Sembrado de la muestra

1. Prender el equipo para siembra automatizada y cargarla con las placas correspondientes (agar sangre y cromogénico)
2. Poner el tubo para urocultivo en la gradilla y colocarlo en el equipo
3. Incubar las placas durante 24 horas a 37 °c.
4. Observar la placa y valorar que el crecimiento sea mayor a 100.000 bacterias/ml para que el cultivo sea considerado como positivo. Las placas con crecimiento menor a 100.000 bacterias/ml son valoradas y según sea el caso, se decide si se prosigue a identificación y sensibilidad dependiendo de la bacteria encontrada, al no ser un caso relevante se toma como negativo y se desecha la placa.



## Identificación:

1. Tomar una colonia aislada del cultivo positivo con la punta de un palillo estéril y ponerla en un pozo del portaobjetos metálico girando suavemente el palillo.
2. Tomar una colonia aislada con la punta de otro palillo estéril de la cepa ATCC con número 8739 *E. coli* para la calibración.
3. Con una pipeta volumétrica agregar 1 µl de la matriz al pozo del portaobjetos con la colonia y esperar hasta que se cristalice.
4. Encender el espectrómetro de masas y programar cada pozo del portaobjetos con el número de cultivo de donde se tomó la muestra.
5. Abrir la compuerta del equipo y meter el portaobjetos, después presionar “arrancar” que se encuentra en la pantalla del monitor
6. Esperar el resultado de 5 a 10 minutos



Figura N° 2 Proceso a seguir para la identificación de bacterias mediante el uso de espectrómetro de masas.

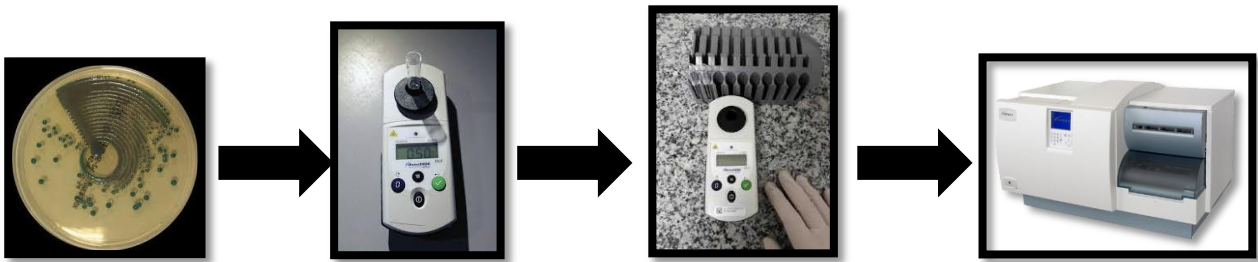
## Susceptibilidad

### Preparación de la suspensión

1. Transferir con asa estéril, a partir de un cultivo puro desarrollado durante 24 h en Agar, una cantidad suficiente de inóculo a un tubo de ensayo de poliestireno claro de 12x75 mm que contiene 3 mL de solución salina estéril (Sol. Acuosa de NaCl 0.45% a 0.5%, pH 4.5 a 7.0).
2. Ajustar la turbiedad a 0.50-0.63 unidades de la escala de McFarland con el densitómetro.
3. Colocar el tubo de ensayo que contiene la suspensión bacteriana dentro de la gradilla especial (cassette), y la tarjeta de identificación se coloca en la ranura

cercana, insertando el tubo de transferencia dentro del tubo con la suspensión correspondiente.

- Colocar el cassette con las muestras en el sistema automatizado
- Esperar 24 horas para obtener el resultado.



## 6. RESULTADOS:

Tabla 3. Número total de muestras obtenidas durante un mes

No. total de muestras	Crecimiento positivo	Crecimiento negativo	Muestras contaminadas
334	71	258	1

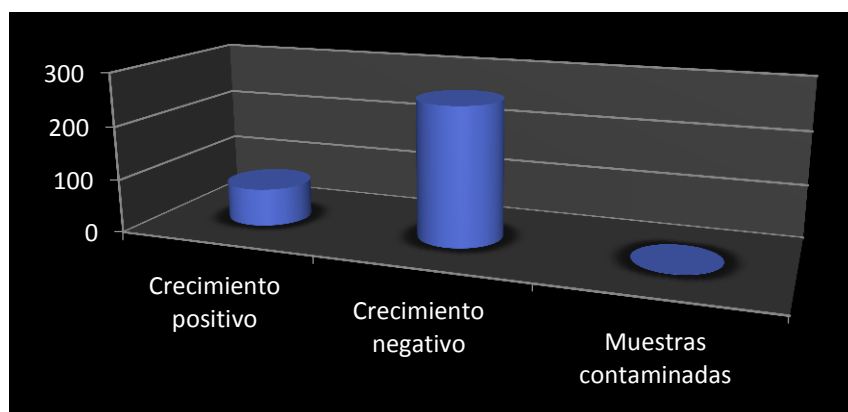


Grafico n°1: Número de muestras totales con crecimiento de bacterias positivo, negativo y contaminado

Tabla 4: clasificación de crecimiento positivo por edades

Tipo de crecimiento	Niñas y adolescentes (0-14 años)	Mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)	Mujeres en edad avanzada (>45 años)
<b>Positivo</b>	6	23	42

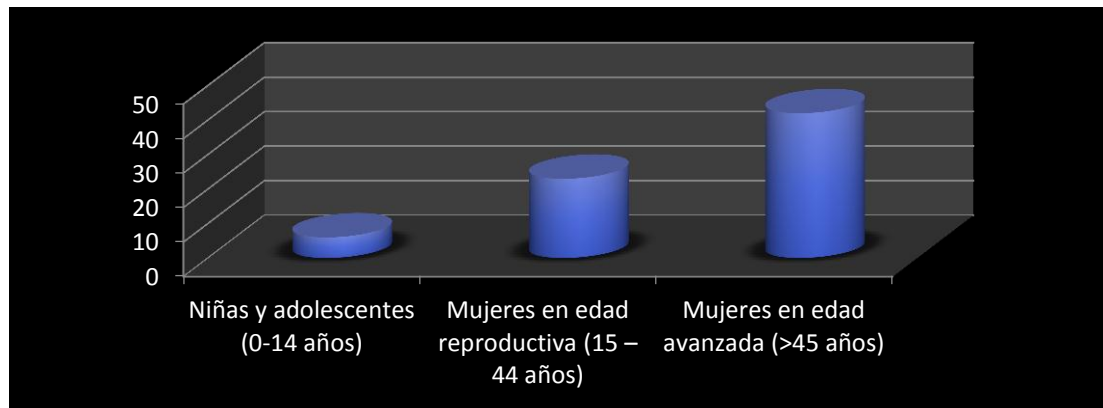


Gráfico n°2: Crecimiento de bacterias de acuerdo a la edad

Tabla 5: clasificación de la frecuencia de microorganismos encontrados en urocultivos

Microorganismos encontrados	No. de casos en niñas y adolescentes (0-14 años)	No. de casos en mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)	No. de casos en en mujeres en edad avanzada (>45 años)
<b><u>Escherichia coli</u></b>	3	21	28
<b><u>Klebsiella pneumoniae</u></b>	1	-	4
<b><u>Enterobacter cloacae</u></b>	2	-	-
<b><u>Enterococcus faecalis</u></b>	-	1	3
<b><u>Staphylococcus epidermidis</u></b>	-	-	1
<b><u>Streptococcus agalactiae</u></b>	-	-	1
<b><u>Pseudomonas aeruginosa</u></b>	-	-	3
<b><u>Pseudomonas aeruginosa</u></b>	-	1	1

En esta tabla se observa la cantidad de pacientes que adquieren una determinada bacteria de acuerdo a la edad



Grafico 3: frecuencia de microorganismos encontrados en niñas y adolescentes.

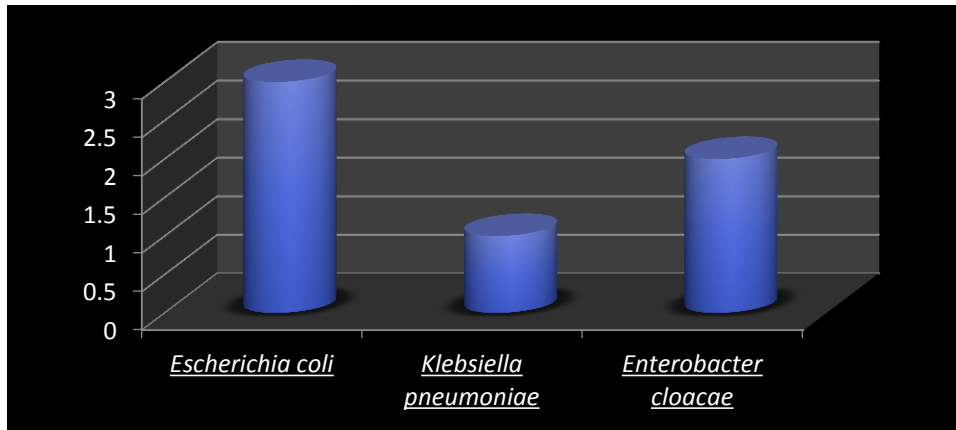


Grafico n°3: En este gráfico se observa las bacterias encontradas en niñas y adolescentes, así como la frecuencia de cada una.

Grafico 4: frecuencia de microorganismos encontrados en mujeres de edad reproductiva.

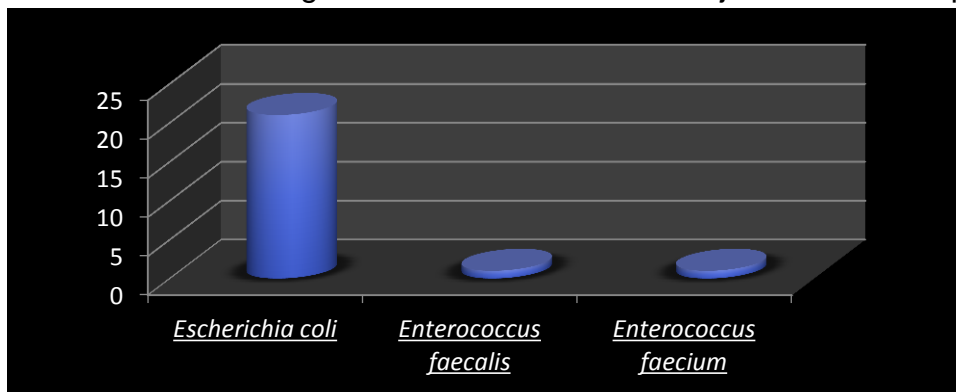


Grafico n°4 En este gráfico se observa las bacterias encontradas en mujeres en edad reproductiva, así como la frecuencia de cada una

Grafico 5: frecuencia de microorganismos encontrados en mujeres de edad avanzada

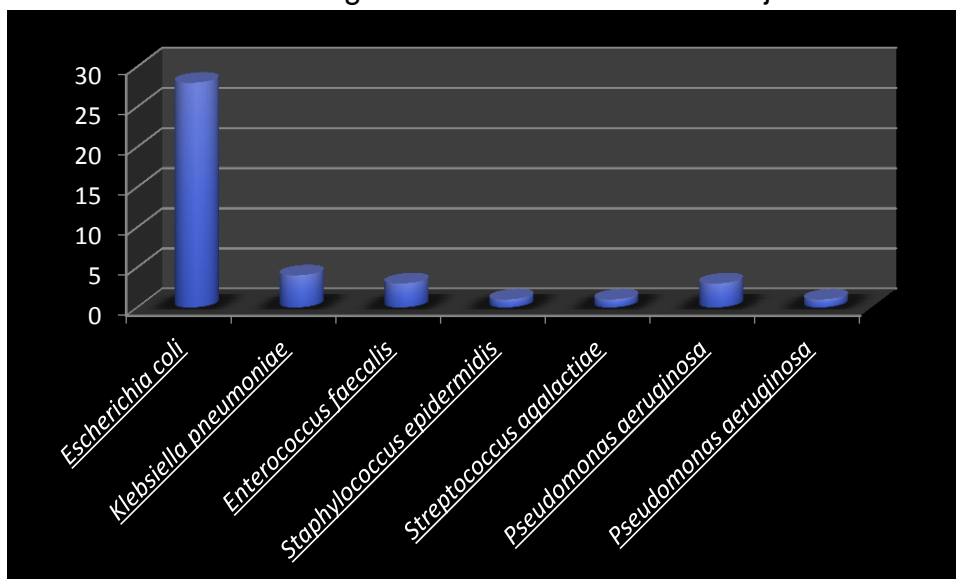


Grafico n°4 En este gráfico se observa las bacterias encontradas en mujeres de edad avanzada, así como la frecuencia de cada una

Tabla 6: Resistencia a antibióticos en *Escherichia coli*

Antibiótico	% En niñas y adolescentes (0-14 años)			% En mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)			% En mujeres en edad avanzada (>45 años)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacina	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Ampicilina Subactam	100	-	-	28.6	19	52.4	22.2	11.1	66.7
Cefepima	100	-	-	52.4	4.8	42.8	67.9	-	32.1
Cefoxilina	100	-	-	66.7	11.1	22.2	85.7	-	14.3
Ceftazidima	100	-	-	52.4	-	47.6	67.9	-	32.1
Ceftriaxona	100	-	-	47.6	4.8	47.6	67.9	-	32.1
Ciprofloxacino	100	-	-	57.1	-	42.9	21.4	-	78.6
Colistina	100	-	-	66.7	-	33.3	92.9	-	7.1
Doripenem	100	-	-	77.7	-	22.2	92.3	-	7.7
Ertapenem	100	-	-	100	-	-	96.4	-	3.6
Gentamicina	100	-	-	76.2	-	23.8	67.9	-	32.1
Imipenem	100	-	-	77.8	-	22.2	92.3	-	7.7
Meropenem	100	-	-	100	-	-	96.4	-	3.6
Piperacim Tazobactam	100	-	-	77.8	-	22.2	38.5	-	61.5
Tigeciclina	100	-	-	66.7	-	33.3	100	-	-
Cefalotina	60	-	40	41.7	-	58.3	26.7	13.3	60
Fosfomicina	100	-	-	91.7	-	8.3	93.3	-	6.7
Ampicilina	100	-	-	40	-	60	6.7	6.7	86.7
Cefotaxima	100	-	-	63.6	-	36.4	53.3	-	46.7
Cefuroxima	60	-	40	50	8.3	41.7	53.3	-	46.6
Nitrofurantoin	80	20	-	91.6	8.4	-	93.3	6.7	-
Trimet/Sulfa	100	-	-	42.9	-	57.1	53.3	-	46.7
Norfloxacino	100	-	-	83.3	-	16.7	20	-	80

S: sensible I: intermedio R: resistente

En esta tabla se muestra el porcentaje del comportamiento de cada antibiótico mencionado ya sea resistente, intermedio o sensible a *Escherichia coli*

Tabla: 7 Resistencia a antibióticos en *Klebsiella pneumoniae*

Antibiótico	% En niñas y adolescentes (0-14 años)			% En mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)			% En mujeres en edad avanzada (>45 años)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacina	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Ampicilina Subactam	100	-	-	-	-	-	25		75
Cefepima	100	-	-	-	-	-	25	-	75
Cefoxilina	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Ceftazidima	100	-	-	-	-	-	-	-	100
Ceftriaxona	100	-	-	-	-	-	25	-	75
Ciprofloxacino	100	-	-	-	-	-	25	75	-
Colistina	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Doripenem	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Ertapenem	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Gentamicina	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Imipenem	100	-	-	-	-	-	-	-	100
Meropenem	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Piperacim Tazobactam	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Tigeciclina	100	-	-	-	-	-	100	-	-
Cefalotina	-	-	-	-	-	-	100	-	-
Fosfomicina	-	-	-	-	-	-	100	-	-
Ampicilina	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Cefotaxima	-	-	-	-	-	-	100	-	-
Cefuroxima	-	-	-	-	-	-	100	-	
Nitrofurantoin	-	-	-	-	-	-	100	6.7	-
Trimet/Sulfa	-	-	-	-	-	-	100	-	46.7
Norfloxacino	-	-	-	-	-	-	100	-	80

S: sensible I: intermedio R: resistente

En esta tabla se muestra el porcentaje del comportamiento de cada antibiótico mencionado ya sea resistente, intermedio o sensible a *Klebsiella pneumoniae*

Tabla: 8 Resistencia a antibióticos en *Enterobacter cloacae*

Antibiótico	% En niñas y adolescentes (0-14 años)			% En mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)			% En mujeres en edad avanzada (>45 años)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacina	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Cefepima	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Ceftazidima	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Ceftriaxona	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciprofloxacino	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Ertapenem	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Meropenem	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Cefalotina	-	-	100	-	-	-	-	-	-
Fosfomicina	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Cefotaxima	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Cefuroxima	-	-	100	-	-	-	-	-	-
Nitrofurantoin	50	50	-	-	-	-	-	-	-
Trimet/Sulfa	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Norfloxacino	100	-	-	-	-	-	-	-	-

S: sensible I: intermedio R: resistente

En esta tabla se muestra el porcentaje del comportamiento de cada antibiótico mencionado ya sea resistente, intermedio o sensible a *Enterobacter cloacae*

Tabla: 9 Resistencia a antibióticos en *Enterococcus faecalis*

Antibiótico	% En niñas y adolescentes (0-14 años)			% En mujeres en edad reproductiva (15 – 44 años)			% En mujeres en edad avanzada (>45 años)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacina	-	-	-	100	-	-	100	-	-
Ciprofloxacino	-	-	-	100	-	-	100	-	-
Gentamicina	-	-	-	100	-	-	66.7	-	33.3
Doxiciclina	-	-	-	-	-	100	66.7	-	33.3
Eritromicina	-	-	-	-	-	100	-	-	100
Levofloxacino	-	-	-	100	-	-	100	-	-
Linezolid	-	-	-	100	-	-	100	-	-
Nitrofurantoin	-	-	-	100	-	-	66.7	-	33.3
Vancomicina	-	-	-	100	-	-	100	-	-
Tetraciclina	-	-	-	-	-	100	100	-	-
Daptomicina	-	-	-	100	-	-	100	-	-

S: sensible I: intermedio R: resistente

En esta tabla se muestra el porcentaje del comportamiento de cada antibiótico mencionado ya sea resistente, intermedio o sensible a *Enterococcus faecalis*

## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La identificación de microorganismos en una ITU es de vital importancia para una correcta prescripción del tratamiento tomando en cuenta los patrones de sensibilidad de las bacterias potencialmente causantes de las mismas. (J.M. Sanchez Merino, 2003)

Como se observa en la tabla 3, sólo 71 muestras son positivas, considerando que el médico normalmente prescribe un tratamiento empírico a la llegada del paciente debido al retraso que implican los estudios microbiológicos, parte de las pacientes tienen gran probabilidad de presentar ITU no complicadas que por acción del antibiótico prescrito de manera empírica gracias a estudios previos de resistencia en la población (J.M. Sanchez Merino, 2003) la mayoría de los urocultivos fueron negativos.

El presente trabajo tiene como primer objetivo Identificar el microorganismo que se presenta más frecuentemente aislado en urocultivos de niñas, mujeres en edad adolescente, reproductiva y avanzada. En más del 95% de los casos, un único microorganismo es el responsable de la ITU. El agente etiológico más frecuente es la *Escherichia coli*, responsable del 75% a 80% de casos (Juan Echevarría-Zarate1, 2006), lo cual se demuestra en este trabajo, siendo las mujeres de edad avanzada con mayor casos de infección por *Escherichia coli*.

El 20% a 25% restante incluye microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Juan Echevarría-Zarate1, 2006) lo que también se comprueba en este trabajo, ya que se encontraron *Klebsiella pneumonie*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*, entre otros, siendo estos los más significativos.

Las infecciones urinarias son las más frecuentes en la población anciana. Su prevalencia aumenta con la edad, puesto que el envejecimiento produce una alteración de los mecanismos defensivos frente a la infección.

Dicha frecuencia se incrementa especialmente en las mujeres posmenopáusicas. El déficit estrogénico que acompaña a la menopausia puede incrementar el pH vaginal y reducir la concentración de lactobacilos a favor de especies tales como *E. coli* y otras enterobacterias. (Ayala, 2009)

La segunda población en este trabajo en presentar *Escherichia coli*, son las mujeres en edad reproductiva. El riesgo mayor está asociado a mujeres entre 20 y 35 años, con parejas sexuales múltiples aumentando el riesgo de contraer este tipo de infecciones (Fernandez, 2003).

Los urocultivos de niñas y adolescentes también presentaron *Escherichia coli* en su mayoría. Actualmente se acepta la existencia de una predisposición individual y genética a padecer una ITU, ya que un niño tiene como factor de riesgo presentar anomalías del tracto urinario que favorecen el enlentecimiento del flujo urinario, la disfunción del tracto urinario inferior y el estreñimiento. Por otro lado, en algunos trabajos se evidencia el factor protector de la lactancia materna prolongada durante más de seis meses. (Juan David González Rodríguez, 2014)

La relación entre infección por *E. coli* y el género femenino, podría explicarse por razones anatómicas, y podría ser debido a un origen fecal de las infecciones o bien a partir de la colonización del tracto vaginal.

### **Resistencia a antibióticos**

En los últimos años la resistencia a los antibióticos se ha transformado en un problema clínico, microbiológico, epidemiológico y, en definitiva, de salud pública. Numerosos estudios sugieren que el principal determinante del aumento y la diseminación de la resistencia es el mal uso y abuso de los antibióticos.

Algunas de las enfermedades que contraen los niños menores de 5 años son de origen vírico que son tratadas con antibióticos, Mientras que tratar un proceso vírico con un antibiótico de amplio espectro por vía oral carece de utilidad y somete al paciente a unos riesgos de alergias y toxicidad innecesarios, el impacto ecológico sobre la flora respiratoria e intestinal es considerable ya que el antibiótico eliminará las bacterias sensibles y permitirá el crecimiento y la colonización de las bacterias resistentes. (J., 2006)

Como se observa en las tablas 6,7 y 8 en la población de niñas y adolescentes, afortunadamente los antibióticos utilizados aún son eficientes con las bacterias identificadas, ya que en los antibiogramas obtenidos la sensibilidad de la gran mayoría de los antibióticos se encuentra al 100%.

En la población de mujeres en edad reproductiva hay una variación en los resultados, algunos antibióticos se presentan resistencia importante, ya que el mal uso de antibióticos y la exposición a estrógenos en forma de anticonceptivos o terapia hormonal sustitutiva, durante un periodo previo de seis meses, son factores que aumentan la resistencia a antibióticos (Dra. Carmen Marín, 2015)

De acuerdo a un estudio realizado en 1984 con duración de 12 años acerca de la evolución de la sensibilidad de *Escherichia coli* frente a aquellos antibióticos más utilizados en atención primaria, se encontró que dicha sensibilidad ha ido disminuyendo con el paso del tiempo. (G. Sauca C. G., 1997)

Dicho estudio menciona que *Escherichia coli* mantiene una baja sensibilidad frente a ampicilina, no superando el 50 y 75%, respectivamente (G. Sauca C. G., 1997), en este trabajo se obtuvo una sensibilidad del 40% para mujeres en edad reproductiva y 6.7% en mujeres de edad avanzada, lo que indica que es un antibiótico no apto como tratamiento.

Para poder considerar un antibiótico como tratamiento en la población mexicana, el rango de sensibilidad recomendado debe ser igual o mayor a 80%, acorde con las guías de tratamiento para este padecimiento de la IDSA. (*Infectious Diseases Society of America*) (Ernesto Calderón-Jaimes, 2013)

Este estudio también menciona que más del 94% de las cepas de *Escherichia coli* son sensibles a cefuroxima y gentamicina (G. Sauca C. G., 1997), pero se obtuvo como resultado

que para cefuroxima un 50% para mujeres en edad reproductiva y 53.3% para mujeres en edad avanzada. Para gentamicina 76.2% y 67.9% para mujeres en edad reproductiva y avanzada, lo que indica que la resistencia a antibióticos ha crecido exponencialmente con el paso de los años descartando a estos antibióticos como tratamiento en estos pacientes.

En cuanto a Norfloxacin el estudio menciona una sensibilidad del 85.7%, y en este trabajo para mujeres en edad reproductiva se obtuvo un 83.3% y en mujeres de edad avanzada se obtuvo 20%, lo que indica un resultado alarmante para esta población.

En los pacientes de edad avanzada es frecuente aislar microorganismos multirresistentes como consecuencia de la utilización de múltiples antibióticos a lo largo de su vida y de la transmisión de los microorganismos entre pacientes.

Las enfermedades concomitantes como la diabetes son variables que indican que uno de los mecanismos por lo que la población de edad avanzada adquiere uropatógenos resistentes es su mayor frecuencia de ingresos hospitalarios, es por eso que esta población se le diagnosticó *Pseudomonas aeruginosa* que es una bacteria nosocomial.

Otro estudio realizado en 2001 menciona que Nitrofurantoin, tiene una sensibilidad de 94.7% (Margarita Garaua, 2001), al comparar con los resultados obtenidos se observan resultados mayores del 90% para las poblaciones en estudio, lo que indica que la sensibilidad aun es favorable.

También menciona que Fosfomicina es una buena alternativa, ya que se obtienen resultados con una sensibilidad arriba del 90% que en comparación con este trabajo se sigue manteniendo dicha sensibilidad por arriba del 90% para las poblaciones en estudio. (Margarita Garaua, 2001)

Las sensibilidades encontradas muestran un perfil más favorable para amikacina ya que en las 3 poblaciones en estudio aún hay una sensibilidad del 100%, en cuanto al grupo de los carbapenemas también se obtuvieron buenos resultados por lo que son antibióticos que pueden ser utilizados como tratamiento seguro.

Al observar las tablas 7,8 y 9 donde se presentan las bacterias con mayor importancia en este trabajo después de *Escherichia coli*, los antibióticos usados para tratar los microorganismos identificados como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *Enterococcus faecalis* aún son eficaces, ya que la mayoría se encuentra con un sensibilidad del 100% para las 3 poblaciones que se estudiaron.

Con esto se puede comprobar que *Escherichia coli* es una bacteria que ha mutado constantemente propiciando una mayor resistencia a antibióticos en comparación con las demás bacterias identificadas.

## 8. CONCLUSIÓN

Cabe mencionar que la identificación del microorganismo mediante urocultivos cuando se sospecha de infecciones en el tracto urinario es de vital importancia, debido a que conduce al médico a tratar dicha infección con antibióticos que eliminen la bacteria completamente y así evitar la resistencia a antibióticos en la población por la prescripción de un tratamiento poco apto que elimine el microorganismo.

Hay que tomar en cuenta que la resistencia a antibióticos ha ido elevándose con el paso de los años permitiendo que la gran mayoría de los antibióticos ya no sean eficaces contra microorganismos como *Escherichia coli* por lo que es importante hacer estudios donde se evalúe que antibióticos han dejado de ser funcionales para la población, como es el caso de la ampicilina que es funcional para una mínima parte de la población, para orientar al médico con un tratamiento empírico cuando la ITU sea severa y no se tenga el tiempo para esperar los resultados del urocultivo.

Los antibióticos deben ser utilizados sólo cuando son útiles para el paciente, teniendo en cuenta los posibles patógenos bacterianos implicados y los niveles de resistencia de cada área, con el mínimo impacto posible sobre la flora intestinal y en las dosis y duración adecuadas para asegurar la eficacia, la tolerancia y la adherencia al tratamiento.

Es importante tomar medidas sobre el uso prudente de estos medicamentos así como educar al médico, farmacéutico y sobre todo a la población en general.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- 3) Dr. Marco Luis Herrera. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana Metodología de laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, 34, 1-3.
- 4) Dr. Horacio Lopardo. (2019). Urocultivo. Apuntes de laboratorio, III, 13-15.
- 5) Comité de microbiología clínica. (2001). Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. . Sociedad chilena de infectología, 18, 57-63.
- 6) Patricia García, Fidel Allende, Paulette Legarraga, Marcos Huilcaman y Sandra Solari. (Noviembre de 2011). Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. Revista chilena de infectología, 29, 263-272.
- 7) Dra. Deatrice Hervé E. (2015). Nuevas tecnologías en diagnóstico microbiológico: automatización y algunas aplicaciones en identificación microbiana y estudio de



susceptibilidad. Microbióloga. Médico consultor laboratorio de microbiología. Clínica las condes, 26, 753-763].

- 8) Dra. Carmen Marín, Dra. Aurelia Taboada, Dr. Gustavo Benítez. (2015). Indicaciones y Valoración Clínica del Urocultivo y Coprocultivo. Rev. Inst. Med. Trop, 10, 37-47.
- 9) Organización Mundial de la Salud. (Septiembre de 2018). Salud de la mujer. Junio de 2019, de OMS Sitio web: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/women-s-health>
- 10) Krieger JN. Urinary tract infections: what's new J Urol 2002; 168 (6): 2351-58.
- 11) BD. (Septiembre 2011). BD CHROMagar Orientation Medium. Instrucciones de uso medios en placa listos para usar, 1, 1-7.
- 12) Laboratorios Britania. (2015). Sangre Agar Base. Britania, 1, 1-2.
- 13) J.M. Sánchez Merino, C. Guillán Maquieira, C. Fuster foz, F.J. Madrid García, M. Jiménez Rodríguez, J. García Alonso.
- 14) (Diciembre 2003). sensibilidad microbiana de escherichia coli en infecciones urinarias extrahospitalarias. actas urológicas españolas, 27, 783-787.
- 15) G. Saucaa, C. Gallésa, MA. Gasó. (1997). Evolución de la sensibilidad de Escherichia coli a 6 antimicrobianos durante los últimos 12 años. Elsevier, 15, 226-229.
- 16) Juan Echevarría-Zarate, Elsa Sarmiento Aguilar, Fernando Osoro-Plenge. (2006). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Med, 23, 26-31.
- 17) Adela-Emilia Gómez Ayala. (2009). Infección urinaria en el anciano. Elsevier, 23, 40-45.
- 18) Mercè Piera Fernández. (2003). Infecciones urinarias Prevención y tratamiento. Farmacia comunitaria, 17, 40-45.
- 19) Campos Marqués J. La resistencia a antibióticos: un problema pediátrico. En: AEPap ed. Curso de Actualización Pediatría 2006. Madrid: Exlibris Ediciones; 2006. p. 61-67.
- 20) Gonzales Camarena David Enmanuele, Jaulis Solórzano John Fortunato, Tapia Egoávil Elena Zoraida, Samalvides Cuba Frine. (2009). Sensibilidad antibiótica de bacterias causantes de infecciones del tracto urinario en un hospital general. Rev Med Hered, 20, 12-15.