

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO



**“ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA FRECUENCIA DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS
DE LA BACTERIA *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS POSITIVOS DE
PACIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS BENJAMIN BLOOM ENTRE LOS
AÑOS 2013 Y 2014.”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO OPCIÓN AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
LABORATORIO CLÍNICO**

PRESENTADO POR:

BEATRIZ REBECA CRUZ MARTÍNEZ

JOSÉ ELISEO HERRERA GUILLÉN

FLOR DE IDALIA LEÓN DE ALVARENGA

ASESOR:

LICDA. ALBA PATRICIA ARTIGA DE MEJÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO DE 2015.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

RECTOR.

INGENIERO MARIO ROBERTO NIETO LOVO.

VICERECTOR ACADÉMICO.

MAESTRA ANA MARÍA GLOWER DE ALVARADO.

VICERECTOR ADMINISTRATIVO.

MAESTRO OSCAR NOÉ NAVARRETE

FACULTAD DE MEDICINA.

DECANO.

DOCTOR JOSÉ ARNULFO HERRERA TORRES.

VICEDECANO.

LICENCIADO ROBERTO ENRIQUE FONG HERNÁNDEZ.

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA.

LICENCIADA DALIDE RAMOS DE LINARES.

DIRECTOR DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO.

LICENCIADO LUIS ROBERTO PANIAGUA CASTRO.

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS.

Por haberme dado salud, fortaleza y responsabilidad para lograr mis objetivos.

A MIS PADRES.

Fredy y Vilma, por haberme estado apoyando en cada momento.

A MIS ABUELOS.

Carlos y Estela, a quienes he visto como unos padres, gracias por su sabiduría ya que influyeron en mí la madurez necesaria para lograr todos los objetivos en mi vida.

A MI NOVIO.

Mauricio, ya que con su valor y entrega ha sido mi soporte, mi mejor amigo, colega, consejero y mi apoyo en los momentos más difíciles.

A MIS FAMILIARES.

Mi hermano Eliseo, mis tíos y tías, primos y primas, a todos ellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de mi tesis.

A MIS MAESTROS.

Quienes nunca desistieron al enseñarme para culminar mis estudios profesionales.

A MIS AMIGOS.

Por brindarme su sincera y valiosa amistad, en especial a mi grupo de tesis Eliseo y Flor, quienes nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional.

A todos ellos GRACIAS.

BEATRIZ REBECA CRUZ MARTÍNEZ.

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS TODO PODEROSO.

Por haberme iluminado en el camino del conocimiento y fortalecido en los momentos más difíciles para culminar con éxito mi carrera.

A MIS PADRES.

José Eliseo Herrera Pineda y Gladys del Carmen Guillén de Herrera, por su amor, comprensión, sabios consejos y ser mi ferviente inspiración de superación.

A MIS HERMANOS.

María Elena, Juan Francisco y José Nelson, que con su apoyo moral y económico me impulsaron a continuar y finalizar mi carrera.

A MIS DEMAS FAMILIARES.

Quienes en todo momento me brindaron su apoyo incondicional y vieron en mí un ejemplo de superación.

A MIS COMPAÑERAS DE TESIS.

Rebeca Martínez y Flor León. Con quienes con mucho esfuerzo y sacrificio logramos superar todos los obstáculos y llegar a la meta propuesta.

A MIS AMIGOS.

Quienes con su amistad fortalecieron mi espíritu de lucha y superación.

A TODOS LOS DOCENTES.

Que de alguna u otra manera brindaron sus conocimientos para abonar y coronar mi carrera.

JOSÉ ELISEO HERRERA GUILLÉN.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios todo poderoso por darme la sabiduría necesaria a lo largo de mi carrera y ser mi guía.

A MIS PADRES:

Pedro León León y María Luisa Guerra de León, por ser un ejemplo y apoyo incondicional en mi vida. Los amo.

A MÍ QUERIDO ESPOSO:

Jorge Gustavo Alvarenga, Gracias por ser mi apoyo incondicional, por brindarme su amor y cariño, gracias por estar en cada momento a mi lado.

A MIS HERMANOS Y HERMANA:

Por la dedicación de su tiempo hacia mí y por su cariño.

A MIS AMIGOS:

Beatriz Rebeca Cruz Martínez y José Eliseo Herrera Guillén, por su dedicación brindada.

A todos gracias.

FLOR DE IDALIA LEÓN DE ALVARENGA.

ÍNDICE.

Contenido.	Número de página.
INTRODUCCIÓN.....	i
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	5
HIPÓTESIS.....	6
MARCO TEÓRICO.....	7
DISEÑO METODOLÓGICO.....	23
RESULTADOS.....	26
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	35
CONCLUSIONES.....	39
RECOMENDACIONES.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS.....	45

INTRODUCCIÓN.

La infección de las vías urinarias, es una infección que puede ocurrir en diferentes puntos del tracto urinario: vejiga, riñones, uréteres, uretra. La mayoría se desarrolla con más frecuencia en la vejiga pero puede propagarse a los riñones, sin embargo ciertas afecciones aumentan el riesgo de padecer infecciones urinarias. La diabetes, el embarazo, los cálculos renales, la edad avanzada, tener una sonda vesical o permanecer inmóvil son algunos de los factores que incrementan las probabilidades de sufrir una infección urinarias.

Las infecciones más habituales son las producidas por las bacterias Gram negativas de procedencia intestinal que pertenecen fundamentalmente al grupo de la enterobacterias, aunque también pueden presentarse en una menor proporción a causa de hongos, virus o parásitos.

Debido a la complejidad de los síntomas, es necesario diagnosticarla, el urocultivo es el modelo de referencia para poder identificar el agente patógeno, un cultivo positivo asociado con los síntomas determinan una valoración eficaz para aquellos pacientes en donde existen dudas sobre su diagnóstico.

Dado a que en la práctica clínica cotidiana la ausencia de estudios de vigilancia adecuada y los patrones de sensibilidad de los uropatógenos se debe considerar la alta frecuencia de resistencia a los antibióticos que presentan las diferentes cepas bacterianas aisladas en pacientes ambulatorios.

El presente trabajo es una investigación que tiene por objetivo demostrar la frecuencia de resistencia a los antimicrobianos de *Proteus mirabilis* en pacientes del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom entre los años 2013 y 2014.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La infección de vías urinarias es un motivo frecuente de consulta médica, es una patología que afecta tanto a mujeres como a hombres, con un número mayor de casos en el sexo femenino. Aproximadamente el 50% de las mujeres experimentan por lo menos una infección de vías urinarias en su vida y su presencia es más frecuente durante el embarazo.

Los agentes más involucrados en este padecimiento son las bacterias Gram negativas de la familia enterobacteriaceae. De ellas la *Escherichia coli* es la que se ha aislado con más frecuencia, seguido por *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*; y en menos frecuencia *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus sp.*; y en raras ocasiones *Staphylococcus saprofiticus* produce infecciones de vías urinarias en mujeres con baja actividad sexual y *Staphylococcus aureus* en pacientes con sondas.

En los últimos años se han encontrado reportes de diferentes países acerca de la resistencia de *Proteus mirabilis* a diversos antibióticos tales como: Nitrofurantoina, Amoxicilina, Cefalexina, Piperaciclina, Trimetroprim sulfametoxasol (TMP/SMX) y Ampicilina (97%, 46.6%, 32.2%, 28.5%, 27.9% y 24.2% respectivamente); con menor frecuencia se ha visto una resistencia a Ceftriazona, Imipenem y Cefalotina (0.7%, 2.3% y 3.5% respectivamente).

Al referirse a antimicrobianos empleados comúnmente y en la opinión de algunos investigadores, dichos medicamentos no se deben prescribir como terapia empírica inicial en el manejo de infecciones urinarias sin antes contar con la información del antibiograma.

Actualmente en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, no se tienen datos actualizados de un análisis comparativo que permita estudiar la variación que hay entre un año y otro en cuanto a la resistencia expresada por *Proteus mirabilis* frente a antimicrobianos.

Para esta investigación se han considerado algunos de los antimicrobianos más comunes empleados en el antibiograma en los años de 2013 y 2014, y con base a ello se pretende conocer y dar respuesta a los siguientes planteamientos:

¿Cuál será la frecuencia de resistencia a antimicrobianos por *Proteus mirabilis* aislada de urocultivos de pacientes del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom durante el año de 2013?

¿Cuál será la frecuencia de resistencia a antimicrobianos por *Proteus mirabilis* aislada de urocultivos de pacientes del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom durante el año de 2014?

¿Existirá diferencia estadística significativa en la frecuencia de resistencia a antimicrobianos por *Proteus mirabilis* entre los años de 2013 y el 2014?

JUSTIFICACIÓN.

Las infecciones de las vías urinarias son causadas por bacterias que invaden el aparato urinario, según estudios *Proteus mirabilis* es uno de los patógenos que más frecuentemente se aísla y se ha comprobado su resistencia a varios antimicrobianos y su posible variabilidad en el tiempo.

En la actualidad se han publicado recomendaciones para diagnosticar y tratar las infecciones de las vías urinarias, a pesar de contar con este tipo de información no se ha logrado detener el uso indiscriminado de antibióticos, ya que existe una libre adquisición de los medicamentos que dan como resultado complicaciones de dichas enfermedades asociadas al incremento de la resistencia bacteriana.

La investigación realizada busca considerar la importancia que tiene la actualización de patrones de resistencia a los antibióticos por el agente causal de dicha patología.

La investigación fue factible porque conto con el apoyo del personal y jefatura del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom específicamente del Área de Bacteriología de dicho nosocomio, a la vez los resultados obtenidos pueden proporcionarle al médico datos reales que le permiten hacer uso adecuado de los fármacos disponibles, como también ayudar a la concientización para la población sobre los riesgos y complicaciones que conlleva la automedicación y al mismo tiempo disminuir la resistencia bacteriana.

OBJETIVOS.

GENERAL:

Determinar la frecuencia de resistencia a los antimicrobianos por *Proteus mirabilis* aislada de urocultivos de pacientes atendidos en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom y establecer si existe diferencia estadística significativa entre los años 2013 y 2014.

ESPECIFICOS:

- Determinar la frecuencia de resistencia a antimicrobianos de *Proteus mirabilis* durante el año 2013.
- Determinar la frecuencia de resistencia a antimicrobianos de *Proteus mirabilis* durante el año 2014.
- Establecer si existe diferencia estadística significativa de la frecuencia de resistencia de *Proteus mirabilis* a antimicrobianos entre el año 2013 y 2014.

HIPOTESIS.

HIPOTESIS DE TRABAJO.

- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 será del 55%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2014 será del 60%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 no presentará diferencia estadística significativa con relación al año 2014.

HIPOTESIS NULAS.

- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 será del 45%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2014 será del 40%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 presentará diferencia estadística significativa con relación al año 2014.

MARCO TEÓRICO.

Las vías urinarias son órganos que acumulan, almacenan y liberan la orina del cuerpo., entre estos órganos se encuentran los riñones que tienen la función de eliminar los desechos líquidos de la sangre en forma de orina, mantener el balance de las sales y otras sustancias en la sangre y producen una hormona que ayuda a formar los glóbulos rojos.

También se encuentran los uréteres que son tubos delgados que llevan la orina desde los riñones hasta la vejiga, en la parte inferior del abdomen se encuentra una cámara triangular que almacena la orina y la uretra un tubo por el que pasa la orina al salir del cuerpo. (Ver anexo 1)

Una infección de las vías urinarias es una infección en cualquier parte de las mismas, la orina normalmente contiene fluidos, sales y desechos pero está libre de bacterias, virus y hongos que hacen que la orina sea estéril, cuando ciertos microorganismos principalmente bacterias del tubo digestivo contaminan la uretra comienzan a reproducirse y producen una infección.

La mayoría de las infecciones es causada por bacterias Gram negativas que habitan normalmente en el colon, estas comienzan a crecer en la uretra y se desplazan a la vejiga causando una infección de la vejiga (cistitis) si la infección no se trata las bacterias pueden ascender a través de los uréteres e infectar a los riñones (pielonefritis).

La importancia de las infecciones urinarias no solo radica en su frecuencia, sino también en el riesgo que conllevan originar otras alteraciones como extensión de la infección, lesión renal progresiva e irreversible cuyo tratamiento y prevención resultan difíciles.

Tipos de infecciones urinarias:

- Bacteriuria: Se define como la presencia de bacterias en la orina, puede ser asintomática.
- Infecciones del tracto urinario inferior: Comprende la infección en la vejiga, la uretra, la próstata.

- Infecciones del tracto urinario superior: En estos casos incluye cuando la infección alcanza uno o ambos riñones.
- Infecciones urinarias no complicadas: En personas en donde la vía estructural y funcional es normal (comprende cistitis y pielonefritis no complicadas).
- Infecciones urinarias complicadas: En vías urinarias donde existen alteraciones anatómicas o en su funcionamiento, inmunodepresión o con la participación de patógenos inusuales o resistentes.
- Infecciones urinarias recurrentes: Puede tratarse de infecciones (distinto agente) o de recidivas (el mismo agente causante).
- Infecciones urinarias crónicas: Persistencia del mismo microorganismo durante meses o años.

Fuentes de infección:

De las fuentes de infección se pueden distinguir tres vías:

1. Ascendente: Consiste en el ascenso de gérmenes desde la uretra, la mayor incidencia en mujeres la muestran por esta vía debido que la uretra es más corta y está próxima a la zona vulvar y perirrectal. Es la más frecuente.
2. Hemática: Se debe a la localización renal de ciertos procesos generalizados por ejemplo sepsis en pacientes con bacteriemias.
3. Linfática: Es la más rara debido a la existencia de conexiones linfáticas entre la vejiga y los riñones a través del tejido submucoso uretral.

Circunstancias que influyen en la patogenia:

- ✓ Actividad sexual: El coito propicia la introducción de bacterias en la vejiga y se asocia al inicio de cistitis, por lo que parece esencial en la patogenia de las infecciones urinarias en las mujeres.
- ✓ Embarazo: En embarazadas tiene alta frecuencia, debido a la susceptibilidad de la porción superior de las vías urinarias durante la gestación por la disminución del tono uretral.

- ✓ **Obstrucción:** Cuando existe obstrucción ya sea por tumor, cálculo o hipertrofia prostática lleva a una frecuencia mucho mayor de infecciones urinarias.
- ✓ **Reflujo vesicouretral:** Se define como el reflujo de orina desde la vejiga hasta los uréteres y en ocasiones se produce al orinar o incrementar la presión de la vejiga. (ver anexo 2)

Es importante recordar que una infección de vías urinarias mal tratadas o no tratadas es muy probable que se vuelva recurrente y por consecuencia el riesgo de sufrir un daño en el tracto urinario es mayor, ya que puede afectar la función renal causando cuadros como la pielonefritis.

Pielonefritis.

Comprende el proceso inflamatorio de pelvis, cálices renales además del parénquima renal, en mujeres suele comenzar antes de los 40 años y en edad avanzada se presenta con mayor frecuencia en hombres, posiblemente por el desarrollo de adenoma prostático.

Las manifestaciones clínicas suelen ser muy variadas incluyen fiebre, dolor en la fosa lumbar, síndrome miccional hasta un shock séptico.

Cistitis.

Las manifestaciones clínicas de las cistitis consisten en disuria, aumento de la frecuencia miccional, dolor supra púbico y/o hematuria. Estos síntomas pueden ser sutiles en personas jóvenes o de mayor edad.

El análisis de orina es necesario para la evaluación de piuria, siendo una prueba importante para el diagnóstico. La piuria denota la presencia de leucocitos en la orina y generalmente corresponde a una respuesta inflamatoria debido a la presencia de bacterias.

Bacteriuria asintomática:

Hace referencia a las personas que presentan un urocultivo positivo sin manifestaciones de infección, se produce casi exclusivamente en niñas. Es un trastorno benigno que no causa lesión renal excepto en embarazadas.

El diagnóstico de la infección de las vías urinarias inicialmente es empírico siendo en la actualidad una buena opción terapéutica, a nivel mundial se ha demostrado que la resistencia bacteriana es un problema a nivel global, complejo que incluye un gran número de especies bacterianas de importancia médica y es difícil de controlar por su multicausalidad.

El consumo masivo de antibióticos ha creado un ambiente favorable a la selección de bacterias que soportan los efectos tóxicos de los antimicrobianos. El surgimiento reciente de resistencia bacteriana a los antibióticos constituye una circunstancia grave que amenaza con interrumpir la era de los antibióticos más frecuentemente utilizados en este tipo de enfermedad. (WEBER ESTRADA, NATALIA. 2012. 41-42)

UROCULTIVOS Y AGENTES MÁS FRECUENTES EN INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS.

La orina colectada adecuadamente para el urocultivo se efectúa para demostrar la presencia de un número significativo de bacterias (ver anexo 3). En condiciones normales la orina dentro del cuerpo es estéril pero siempre se contamina con bacterias al obtener la muestra. Por esta razón el criterio para interpretar el crecimiento es cuantitativo.

A diferencia de otros cultivos bacteriológicos, las bacterias que causan las infecciones urinarias, se limitan a unos pocos microorganismos de crecimiento rápido. Las principales bacterias que infectan el sistema urinario son las Enterobacterias (Bacilos Gram negativos).

Entre las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia de los urocultivos positivos se encuentran:

- *Escherichia coli*
- *Enterobacter spp.*
- *Klebsiella spp.*
- *Proteus spp.*
- *Pseudomonas aeruginosa* (no es enterobacteria)

Las infecciones mixtas causadas por dos o más especies bacterianas son raras, por lo que el crecimiento con varios tipos de colonias indican contaminación.

La demostración de piuria (presencia de leucocitos polimorfonucleares en el sedimento urinario) y la bacteriuria (bacterias en orina) son de gran importancia para establecer el diagnóstico de infección urinaria. (TORRES RUBÍN, 1996,79).

TAXONOMÍA DEL GÉNERO *Proteus*.

El género *Proteus* forma parte de la familia Enterobacteriaceae. El Manual Bergey's de Determinación Bacteriológica define este género como bacilos gramnegativos, móviles, con flagelos peritricos, aerobios y anaerobios facultativos. Tradicionalmente a este género se le ha colocado en la tribu Proteae que incluye también a los géneros *Providencia* y *Morganella*.

Son bacterias de la flora intestinal normal y se encuentran como microorganismos saprófitos en agua y suelo. (Ver anexo 4)

Las enfermedades en las que participan son:

- 1) Infecciones de las vías urinarias tales como cistitis y pielonefritis
- 2) Sepsis
- 3) Cálculos renales e infecciones de vejiga

Todos ellos se caracterizan por su capacidad para desaminar la fenilalanina transformándola en ácido fenilpirúvico debido a la producción de fenilalanina desaminasa, hidrolizar la tirosina, desdoblar en casi todos los casos la urea y ser resistentes a la colistina.

Dentro de este género, también se encuadran otras tres especies, denominadas como genomoespecies, diferenciadas por técnicas de biología molecular y que aún carecen de un nombre. Asimismo, se incluyen las diferentes especies y subespecies de los géneros *Providencia* y *Morganella*.

La separación de *Proteus penneri* de *Proteus vulgaris* se propuso en el año 1982 por estudios de homología de secuencia de Ácido Desoxirribonucleico (DNA).

Al igual que en el caso de *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*, se ha establecido una clasificación epidemiológica de los aislados clínicos de *Proteus penneri*, utilizando antisueros frente a antígenos somáticos O (lipopolisacárido). También se han desarrollado sistemas de tipificación utilizando proteínas de membrana, el ribotipado y técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR (rep-PCR que utiliza cebadores que hibridan con secuencias de Ácido Desoxirribonucleico repetidas y RAPD-PCR que se basa en la amplificación aleatoria de Ácido desoxirribonucleico polimorfo), que han demostrado una estructura poblacional con una elevada diversidad. (Rafael Cantón)

Proteus mirabilis en cultivo produce el fenómeno de swarming (ver Anexo 5).

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS.

Los microorganismos poseen muchos mecanismos diferentes para desarrollar la resistencia a los fármacos.

- 1) Producen enzimas que destruyen al fármaco activo, ejemplo: Beta lactamasas. Los bacilos Gram negativos resistentes a los aminoglicosidos producen enzimas adenilantes, fosforilantes y acetilantes que destruyen el fármaco. Presentan resistencia al cloranfenicol si producen la enzima cloranfenicol acetiltransferasa.
- 2) Cambian su permeabilidad al fármaco como en las tetraciclinas que se acumula en las bacterias susceptibles, pero no en las bacterias resistentes. La resistencia a la polimixidina también se asocia con un cambio de permeabilidad al fármaco.
- 3) Alteran estructuralmente el “blanco” del fármaco, ejemplo: la resistencia cromosómica a los aminoglicosidos se acompaña de pérdida o alteración de una proteína específica en la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos que sirven como enlace en los microorganismos susceptibles.

Los microorganismos resistentes a la eritromicina muestran alteración del receptor sobre la unidad 50S del ribosoma como consecuencia de la metilación del RNA ribosómico en 23S.

- 4) Desarrollan una vía metabólica diferente que pasa por alto la reacción inhibida por el fármaco.
- 5) Desarrollan una enzima diferente que todavía puede ejecutar su función metabólica pero es mucho menos afectada por el fármaco, ejemplo: en bacterias resistentes al trimetoprim, la ácido dihidrofolico reductasa se inhibe con una menor eficiencia que en bacterias susceptibles al trimetoprim.

Origen de la resistencia a los fármacos.

Puede ser genético o no genético.

- 1) **Resistencia de origen no genético a los fármacos:** la mayor parte de los antibacterianos requieren bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones, por consiguiente, los microorganismos metabólicamente inactivos pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos.

Los microorganismos pueden perder la estructura “blanco” específica de un fármaco durante varias generaciones y por tanto hacerse resistentes.

Los microorganismos pueden causar infección en sitios inaccesibles a los antimicrobianos a donde estos son inactivos.

- 2) **Resistencia de origen genético a los fármacos:** la mayor parte de los microorganismos resistentes a los fármacos surge como resultado de cambios genéticos y de los procesos subsecuentes de selección por los antimicrobianos.

Resistencia Cromosómica.

Esta se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado.

La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección al suprimir los microorganismos susceptibles y favorecer el crecimiento de los mutantes resistentes al fármaco.

La mutación espontánea ocurre con una frecuencia de 10^{-12} a 10^{-7} y por tanto es causa poco frecuente del surgimiento de la resistencia clínica a los fármacos en un paciente dado.

El tratamiento de las infecciones bacterianas con rifampicina como fármaco único fracasa con frecuencia.

Resistencia Extracromosómica.

Las bacterias casi siempre contienen elementos genéticos extracromosómicos denominados plásmidos.

Los factores R son un tipo de plásmidos portadores de genes para resistencia a uno y casi siempre a varios antimicrobianos y metales pesados, estos genes con frecuencia controlan la síntesis de enzimas capaces de destruir a dichos fármacos, por tanto, los plásmidos generan resistencia a las penicilinas y a las cefalosporinas gracias a los genes que poseen para la síntesis de Beta lactamasa.

Los plásmidos codifican enzimas que destruyen al cloranfenicol, enzimas que acetilan, adenilan o fosforilan varios aminoglucósidos; enzimas que determinan el transporte activo de las tetraciclinas a través de la membrana celular y otras enzimas.

El material genético y los plásmidos se pueden transferir mediante la transducción, transformación y conjugación. (Jawetz, 2002, 181-183).

Resistencia enzimática a Betalactámicos en el género Proteus:

La sensibilidad a los antibióticos betalactámicos difiere entre las distintas especies del género Proteus.

Proteus mirabilis es uno de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* más sensibles, debido entre otras causas a la ausencia de betalactamasas cromosómicas. La resistencia en esta especie se debe fundamentalmente a la adquisición de betalactamasas plasmídicas, siendo TEM-1 la más frecuente detectada.

Proteus mirabilis productor de AmpC plasmídica:

Proteus mirabilis es un patógeno de importancia creciente, la producción de AmpC plasmídica es un mecanismo de resistencia frente a cefalosporinas de espectro extendido emergente en esta bacteria.

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS.

Esta prueba junto al urocultivo están indicados cuando se sospecha de una infección urinaria, ya que estos confirman la presencia de infección, identifican al agente causal y la susceptibilidad del agente a los antimicrobianos.

Estas pruebas evalúan la capacidad de un antibiótico u otro fármaco antimicrobiano para inhibir in vitro el desarrollo bacteriano. (VANDEPITE et al, 1993, 78)

La mayoría de autores coinciden en que el médico debe solicitar un estudio de susceptibilidad de antimicrobianos cuando:

- ✓ Si se desconoce la susceptibilidad del microorganismo aislado a los antimicrobianos de uso frecuente.
- ✓ En una patología que no responde al tratamiento con antimicrobianos clásicos. En este caso es conveniente suspender el tratamiento al menos por 72 horas previas a la toma de muestra, siempre y cuando el padecimiento lo permita.
- ✓ En infecciones microbianas graves que comprometen seriamente la salud del paciente.

- ✓ Cuando el microorganismo aislado causante de la patología no es uniforme en su comportamiento frente a los antimicrobianos con que se esté tratando.

Indicaciones para las pruebas de susceptibilidad.

En el laboratorio clínico se puede practicar una prueba de sensibilidad con 2 fines principales:

Guiar al médico en la selección de un agente antimicrobiano de la máxima eficacia posible para tratar a un paciente determinado.

Reunir información epidemiológica sobre la resistencia de los microorganismos de importancia sanitaria en el seno de la comunidad. (VANDEPITE ET AL. 1993, 80)

Clasificación.

Estas pruebas pueden ser de tipo cuantitativo si el resultado permite obtener información gradual de la susceptibilidad de un microorganismo frente a un antimicrobiano o de tipo cualitativo si permite expresar la característica de susceptibilidad o resistencia de este microorganismo.

Pruebas cuantitativas.

- ✓ Antibiograma por dilución:

Se utiliza para evaluar cuantitativamente la actividad de un antimicrobiano se agregan diluciones de este a un caldo o un medio de agar en el que luego se siembra el microorganismo problema. La concentración más baja que impide el crecimiento después de una noche de incubación se considera "Concentración Inhibitoria Mínima" (CIM) del fármaco. La CIM se expresa en microgramos/ml o en unidades del agente/ml.

Pruebas Cualitativas

- ✓ Antibiograma por difusión:

Después de haber sembrado uniformemente el microorganismo problema en un medio de agar, se coloca en la superficie de este varios discos de papel filtro impregnados con un antimicrobiano.

Este se difunde a partir del disco siguiendo un gradiente de concentración, de manera que el crecimiento microbiano resultará inhibido a una distancia del disco, esta inhibición está relacionada con la sensibilidad del microorganismo. Existe una relación lineal entre el diámetro de la inhibición y la susceptibilidad del microorganismo al antimicrobiano. (VANDEPITE ET AL. 1993, 78, 80) (Ver Anexo 6)

Medicamentos elegidos para las pruebas de susceptibilidad.

La elección de un medicamento u otro para el antibiograma se rige por diferentes consideraciones: espectro antibacteriano, propiedades farmacocinéticas, toxicidad, eficacia y disponibilidad de los fármacos, así como el costo de los mismos para el paciente. Aunque el número de agentes antimicrobianos que se podrían utilizar es bastante grande en la prueba deben incluirse un número de fármacos limitado. Los medicamentos básicos que se deberían usar están divididos en dos grupos:

Grupo 1: son aquellos que existen en casi todos los hospitales y que siempre deben incluirse en los exámenes de susceptibilidad.

Grupo 2: son aquellos que se incluyen en la prueba a petición del médico, si el agente causal es resistente a los medicamentos de elección o bien si hay otras razones que justifican pruebas adicionales. (VANDEPITE ET AL. 1993, 90) (Ver anexo 7)

Categoría de interpretación de la prueba de susceptibilidad a antimicrobianos.

Cuando se practica una prueba de sensibilidad lo que se le reporta al médico a modo de resultado es la clasificación del organismo en un sistema de dos o más categorías de sensibilidad. En el método de Kirby-Bauer se admiten tres categorías las cuales son:

Sensible: en microorganismo se considera sensible a un medicamento cuando lo probable es que la infección que causa responda al tratamiento de dicho fármaco a la dosis recomendada, en otras palabras el microorganismo es inhibido por la Concentración Inhibitoria Mínima (CMI) de un antibiótico.

Sensibilidad intermedia: esta categoría corresponde a dos situaciones. Por un lado se incluyen en ella a las cepas moderadamente sensibles a un antimicrobiano que puede aplicarse en el tratamiento en dosis más altas por ser poco tóxico o porque se concentra en el foco de la infección (por ejemplo la orina). También se incluyen las cepas de sensibilidad intermedia a un antibiótico más tóxico que no puede usarse en dosis más altas.

Resistente: este término indica que no es probable que el microorganismo responda a un medicamento determinado, cualquiera que sea la dosis y la localización de la infección. Esto implica que el microorganismo aislado no es inhibido por las concentraciones de antimicrobianos utilizadas en la prueba.

SISTEMA VITEK.

El sistema VITEK es un sistema integral para la identificación bacteriana, pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos y escrutinio rutinario.

El sistema de trabajo está compuesto de una tarjeta, la cual tiene el tamaño de un naipe, con un peso aproximado de 24 gramos. Esta tarjeta está compuesta por 30 o 45 pocillos los cuales contienen los substratos para la identificación microbiana o los antimicrobianos para las pruebas de susceptibilidad. (Ver Anexo 8)

ANTIMICROBIANOS (ANTIBIOTICOS).

El mecanismo más común de actividad antibiótica es la interferencia en la síntesis de la pared celular bacteriana. La mayoría de antibióticos activos sobre la pared se clasifican como antibióticos β -lactámicos (como por ejemplo: penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenems, inhibidores de β -lactamasa), se les denomina así porque comparten una estructura de anillo β -lactámico común. Otros antibióticos que interfieren en la construcción de la pared celular son: vancomicina, daptomicina, bacitracina, isoniazida, etambutol entre otros.

Antibióticos β -lactámicos.

El principal componente estructural de la pared de la célula bacteriana es la capa de peptidoglucano formado por N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico; estas cadenas se entrecruzan con puentes peptídicos que crean una malla rígida que recubre la bacteria. La construcción de las cadenas y el entrecruzamiento están catalizados por enzimas específicas que son miembros de una gran familia de serinas proteasas. Estas enzimas reciben el nombre de proteínas fijadoras de penicilinas (PPB), porque son las dianas de los antibióticos β -lactámicos. Cuando la bacteria en crecimiento queda expuesta a estos antibióticos, este se une a la PPB específica de la pared celular bacteriana e inhibe el ensamblaje de las cadenas de peptidoglucano, estas autolisinas que degradan la pared celular lo que da lugar a la muerte de la bacteria. (MURRAY, 2009, 165).

Penicilinas.

Son antibióticos muy eficaces con una toxicidad extraordinariamente baja. El compuesto básico es un ácido orgánico con un anillo β -lactámico. Las penicilinas son activas principalmente contra las bacterias aerobias Gram positivas. La ampicilina fue la primera penicilina de amplio espectro, aunque su espectro de actividad frente a bacilos Gram negativos se limitaba principalmente a especies de *Escherichia*, *Proteus* y *Haemophilus*. Otras penicilinas como la carbenicilina, ticarcilina y piperacilina son eficaces frente a una gama más amplia de bacterias Gram negativas.

Se han combinado penicilinas seleccionadas con inhibidores de las β -lactamasas (por ejemplo el ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam), que son relativamente inactivos por si solos pero cuando se combinan con algunas penicilinas (como la ampicilina, amoxicilina, ticarcilina, piperacilina), son eficaces en el tratamiento de algunas infecciones causadas por bacterias productoras de β -lactamasa. Los inhibidores se unen irreversiblemente a las β -lactamasas bacterianas susceptibles y las inactivan, lo que le permite al fármaco acompañante que se desestructure la síntesis de la pared celular bacteriana. (MURRAY, 2009, 167)

Cefalosporinas y Cefamicinas.

Las cefalosporinas son antibióticos β -lactámicos derivados del ácido 7-aminocefalosporánico que fue aislado originalmente del hongo *Cephalosporium*. Las cefamicinas están estrechamente relacionadas con las cefalosporinas, excepto que contienen oxígeno en lugar de azufre en el anillo dihidrotiazínico, lo que las hace más estables a la hidrólisis por β -lactamasas. Estas tienen el mismo mecanismo de acción que las penicilinas, sin embargo tienen un espectro antimicrobiano más amplio, son resistentes a muchas β -lactamasas y tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas. Las cefalosporinas poseen una mayor actividad frente a bacterias Gram negativas que las penicilinas; esta actividad, a su vez, varía entre las diferentes generaciones de cefalosporinas. La actividad de los antibióticos de primera generación de corto espectro queda restringida principalmente a especies de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis* y cocos Gram positivos sensibles a oxacilina. Los de segunda generación de espectro expandido poseen una actividad adicional frente a especies de *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* y *Haemophilus influenzae*. Los de tercera generación de amplio espectro y los de cuarta generación de espectro extendido son activos frente a la mayoría de las Enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*.

Carbapenems y Monobactams.

Son otra clase de antibióticos β -lactámicos. Los carbapenems son antibióticos de amplio espectro importantes, ampliamente prescritos, que son activos frente a muchas especies de microorganismos. En cambio los monobactams son antibióticos de corto espectro que son activos solo frente a bacterias Gram negativas aerobias; la ventaja de los antibióticos de corto espectro es que se pueden utilizar para tratar infecciones causadas por microorganismos sensibles sin afectar la población bacteriana protectora normal del paciente.

Aminoglucósidos.

Estos antibióticos constan de azúcares unidos por medios de enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. La estreptomicina, neomicin, kanamicina, tobromicina, gentamicina y la sisomicina están dentro de este grupo. Estos antibióticos ejercen su acción al pasar a través de la membrana externa bacteriana, la pared celular y la membrana citoplasmática al citoplasma, en donde inhiben la síntesis de proteínas al unirse de modo irreversible a las proteínas ribosómicas 30S. Esta unión a los ribosomas tiene dos efectos: producción de proteínas aberrantes como consecuencia de una lectura errónea de ARN mensajero y la interrupción de la síntesis de proteínas al producir la liberación prematura del ribosoma del Ácido Ribonucleico mensajero (ARNm). Estos antibióticos se usan comúnmente para tratar infecciones graves causadas por bacilos Gram negativos y algunos microorganismos Gram positivos.

Tetraciclinas.

Son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro que inhiben la síntesis proteica en las bacterias al unirse de modo irreversible a las subunidades ribosómicas 30S, bloqueando de este modo la unión del ARN de transferencia al complejo ribosoma 30S-ARNm. Dentro de este grupo están la tetraciclina, doxiciclina, minociclina; estas son eficaces en el tratamiento de las infecciones causadas por especies de *Clamidia*, *Mycoplasma* y *Rickettsia*; además de otras especies de bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Quinolonas.

Son agentes quimioterapéuticos sintéticos que inhiben la topoisomerasa tipo II en el ADN bacteriano o la topoisomerasa tipo IV que se requiere para la replicación, recombinación y reparación del ADN. Dentro de este grupo están el ciprofloxacino, levofloxacino y el moxifloxacino. Estos antibióticos poseen una excelente actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Antimetabolitos.

Las sulfamidas son un antimetabolito que compite con el ácido p-aminobenzoico, con lo que se previene la formación de ácido fólico requerido por ciertos microorganismos, estas no interfieren en el metabolismo de los mamíferos ya que estos no producen ácido fólico.

La trimetoprima es otro antimetabolito que interfiere con el metabolismo del ácido fólico al inhibir la dihidrofolato reductasa, con lo que se previene la conversión de dihidrofolato a tetrahidrofolato, esta inhibición bloquea la formación de timidina, algunas purinas, metionina y glicina. La trimetoprima se combina comúnmente con el sulfametoxazol para producir una combinación sinérgica activa en dos etapas de la formación de ácido fólico. Este es eficaz frente a una gran variedad de microorganismos Gram positivos y Gram negativos y es el fármaco de elección para el tratamiento de las infecciones agudas y crónicas del tracto urinario. (MURRAY, 2009, 167, 168, 169 170, 172.)

DISEÑO METODOLÓGICO.

Tipo de investigación.

Se clasifica como un estudio tipo: Documental, Sincrónico, Retrospectivo, Analítico.

Universo y Muestra.

El universo fueron las muestras de orina para urocultivos positivos a *Proteus mirabilis* de los pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom en los años 2013 y 2014 respectivamente.

Técnica de recolección de datos:

En la recolección de datos se acudió a los registros del Área de Bacteriología del Laboratorio Clínico en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom en el cual, se detallaron los resultados de urocultivos positivos a *Proteus mirabilis* con su antibiograma.

Para obtener la información se contó con la colaboración de la coordinadora del Área de Bacteriología del Laboratorio Clínico de dicho nosocomio.

Tabulación y Análisis de datos:

Se identificaron los urocultivos positivos a *Proteus mirabilis* con su respectivo antibiograma realizados durante estos dos años.

Se hicieron cuadros y gráficos los cuales permitieron comparar cada antibiótico en estudio.

Recursos Estadísticos:

Se utilizó un estadístico de prueba, el Chi Cuadrado (X^2) para establecer si existe o no existe diferencia estadística significativa en la resistencia a los antimicrobianos de *Proteus mirabilis* entre los dos años.

La fórmula para obtener Chi cuadrado es:

$$X^2 = \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

Donde:

Σ = Signo de sumatoria.

F_o= Frecuencia observada (Número de casos observados).

F_e= Frecuencia esperada (Número esperado por probabilidades, según casos observados)

El cuadro teórico es:

Variable dependiente			Total
Variable independiente			
	A	B	
	C	D	
Total			

CALCULO DE FRECUENCIAS ESPERADAS

$$Fe \text{ de A} = (A + B \times A + C) / (A + B + C + D)$$

$$Fe \text{ de B} = (A + B \times B + D) / (A + B + C + D)$$

$$Fe \text{ de C} = (C + D \times A + C) / (A + B + C + D)$$

$$Fe \text{ de D} = (C + D \times B + D) / (A + B + C + D)$$

Desarrollando la fórmula de Chi Cuadrado, se tiene:

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A					
B					
C					
D					
				Total	

RESULTADOS.

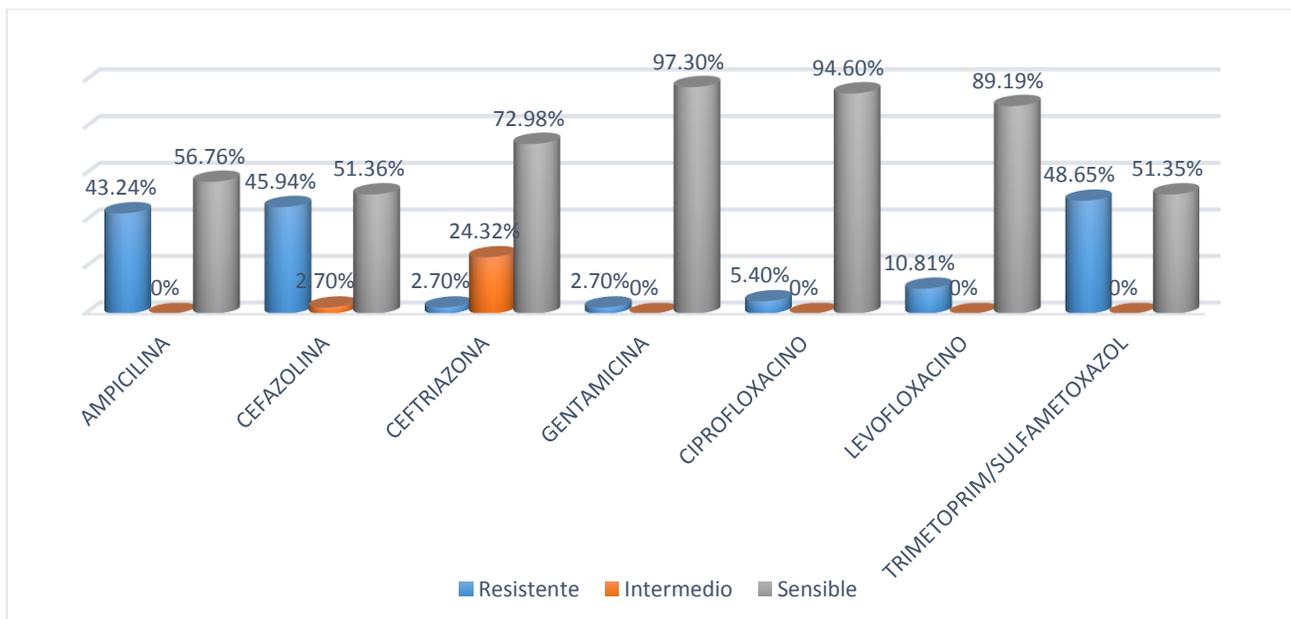
CUADRO N° 1

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE EL AÑO DE 2013.

Antibiótico	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
AMPICILINA	16	43.24%	0	0%	21	56.76%	37	100%
CEFAZOLINA	17	45.94%	1	2.70%	19	51.36%	37	100%
CEFTRIAZONA	1	2.70%	9	24.32%	27	72.98%	37	100%
GENTAMICINA	1	2.70%	0	0%	36	97.30%	37	100%
CIPROFLOXACINO	2	5.40%	0	0%	35	94.60%	37	100%
LEVOFLOXACINO	4	10.81%	0	0%	33	89.19%	37	100%
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL	18	48.65%	0	0%	19	51.35%	37	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 1. PORCENTAJE DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE EL AÑO DE 2013.



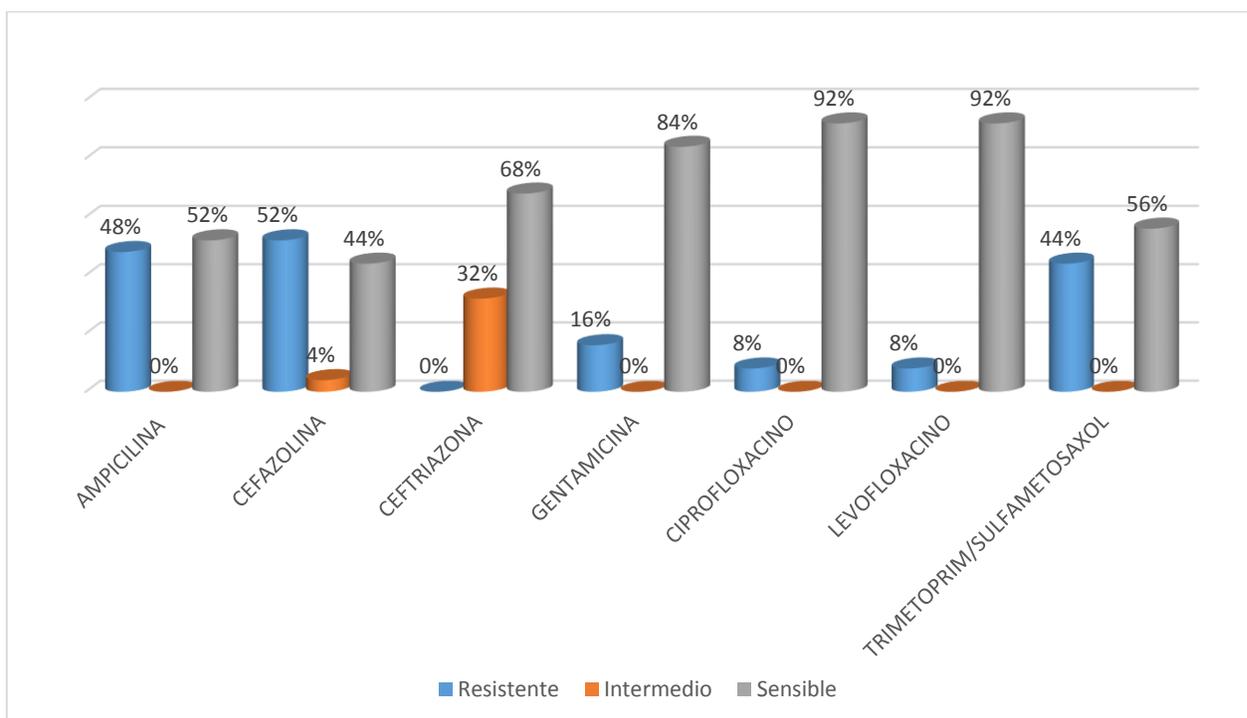
CUADRO N°2

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE EL AÑO DE 2014.

Antibiótico	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
AMPICILINA	12	48%	0	0%	13	52%	25	100%
CEFAZOLINA	13	52%	1	4%	11	44%	25	100%
CEFTRIAZONA	0	0%	8	32%	17	68%	25	100%
GENTAMICINA	4	16%	0	0%	21	84%	25	100%
CIPROFLOXACINO	2	8%	0	0%	23	92%	25	100%
LEVOFLOXACINO	2	8%	0	0%	23	92%	25	100%
TRIMETOPRIM/SULFAMETOSAXOL	11	44%	0	0%	14	56%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 2. PORCENTAJE DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE EL AÑO DE 2014.



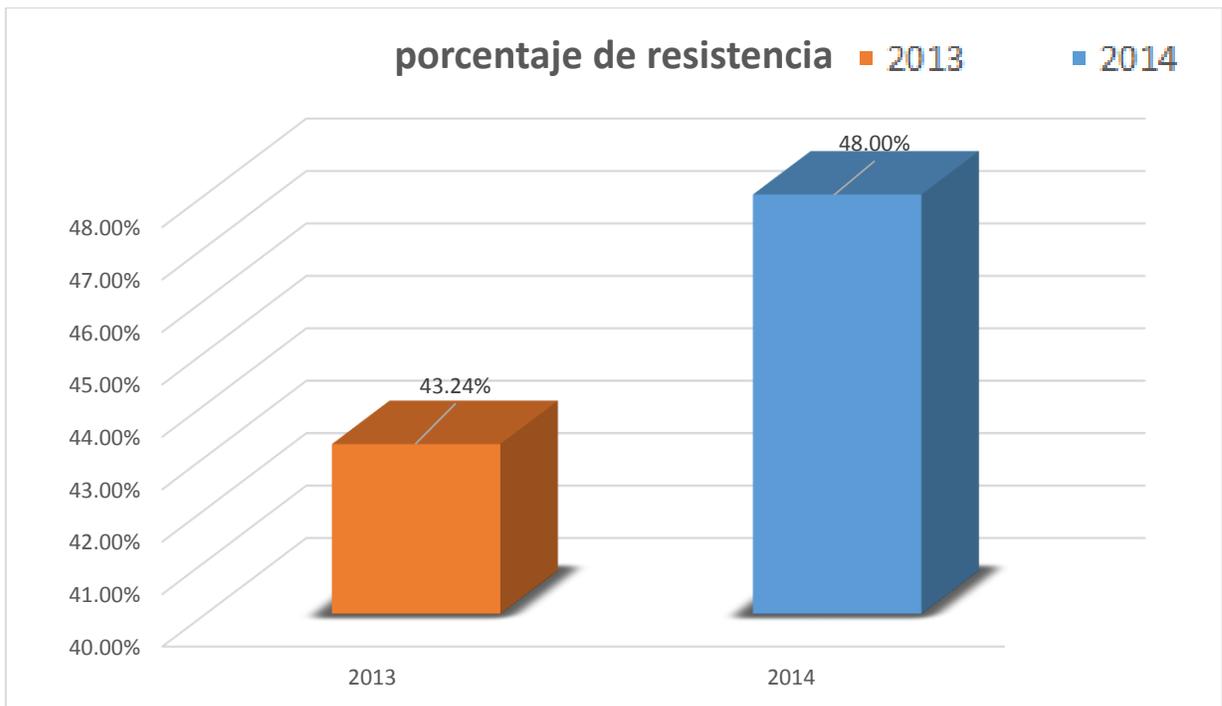
CUADRO N° 3.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A AMPICILINA *POR Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	16	43.24%	0	0%	21	56.76%	37	100%
2014	12	48%	0	0%	13	52%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N°3. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A AMPICILINA *POR Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



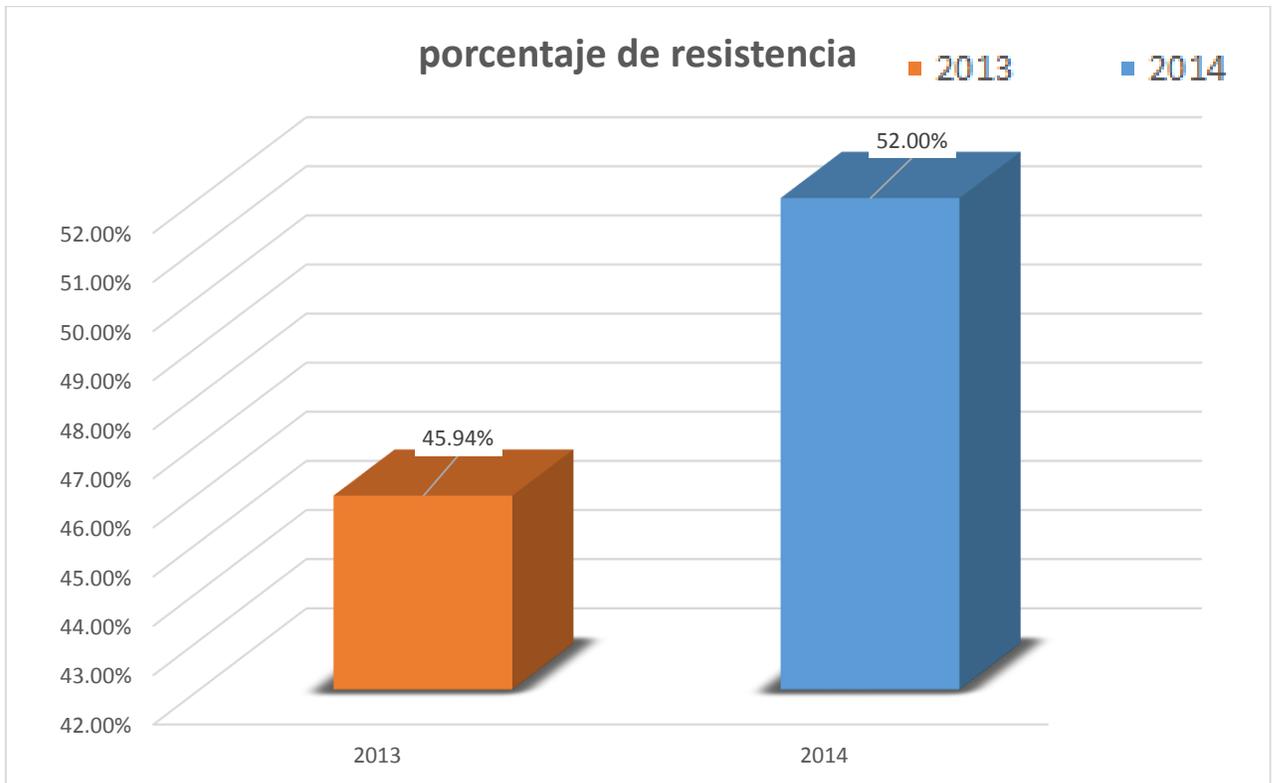
CUADRO N°4.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A CEFAZOLINA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	17	45.94%	1	2.70%	19	51.36%	37	100%
2014	13	52%	1	4%	11	44%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N°4. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A CEFAZOLINA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



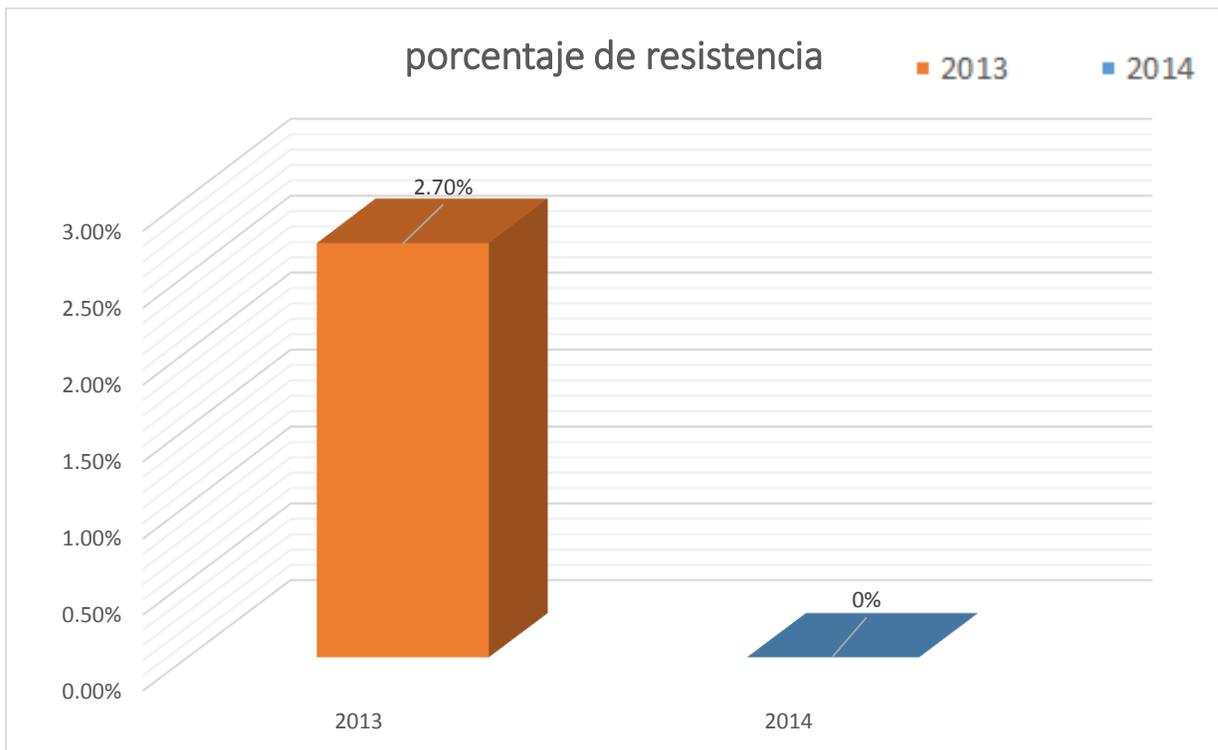
CUADRO N° 5.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A CEFTRIAZONA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	1	2.70%	9	24.32%	27	72.98%	37	100%
2014	0	0%	8	32%	17	68%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N°5. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A CEFTRIAZONA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



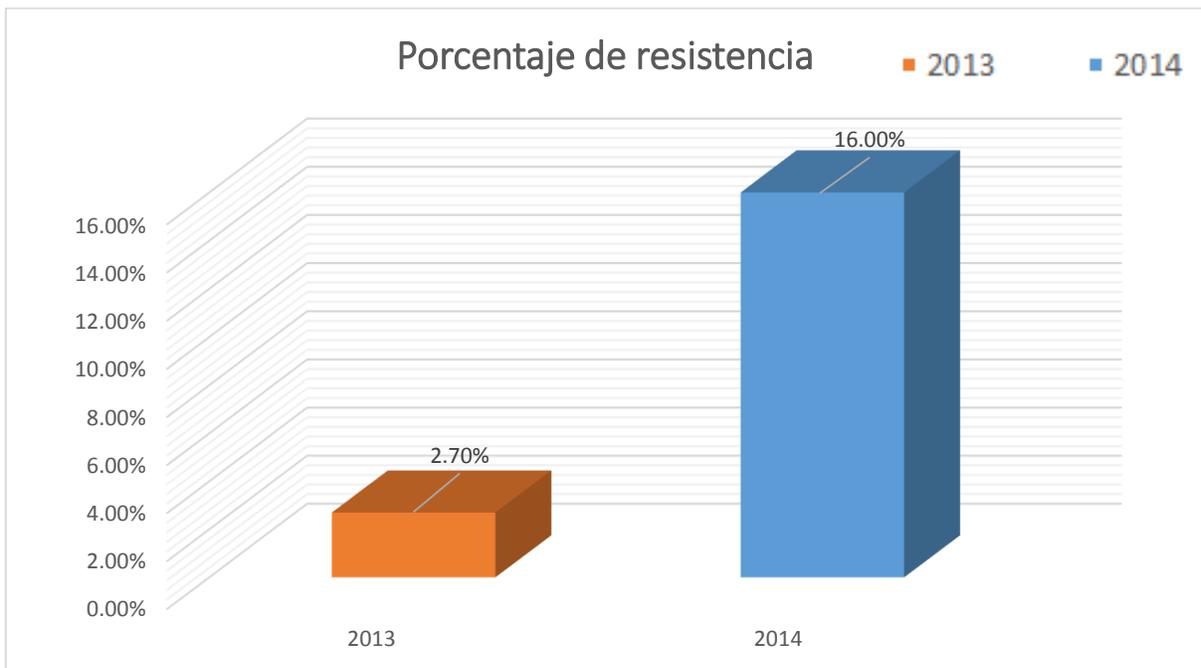
CUADRO N° 6.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A GENTAMICINA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	1	2.70%	0	0%	36	97.30%	37	100%
2014	4	16%	0	0%	21	84%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 6. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A GENTAMICINA POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



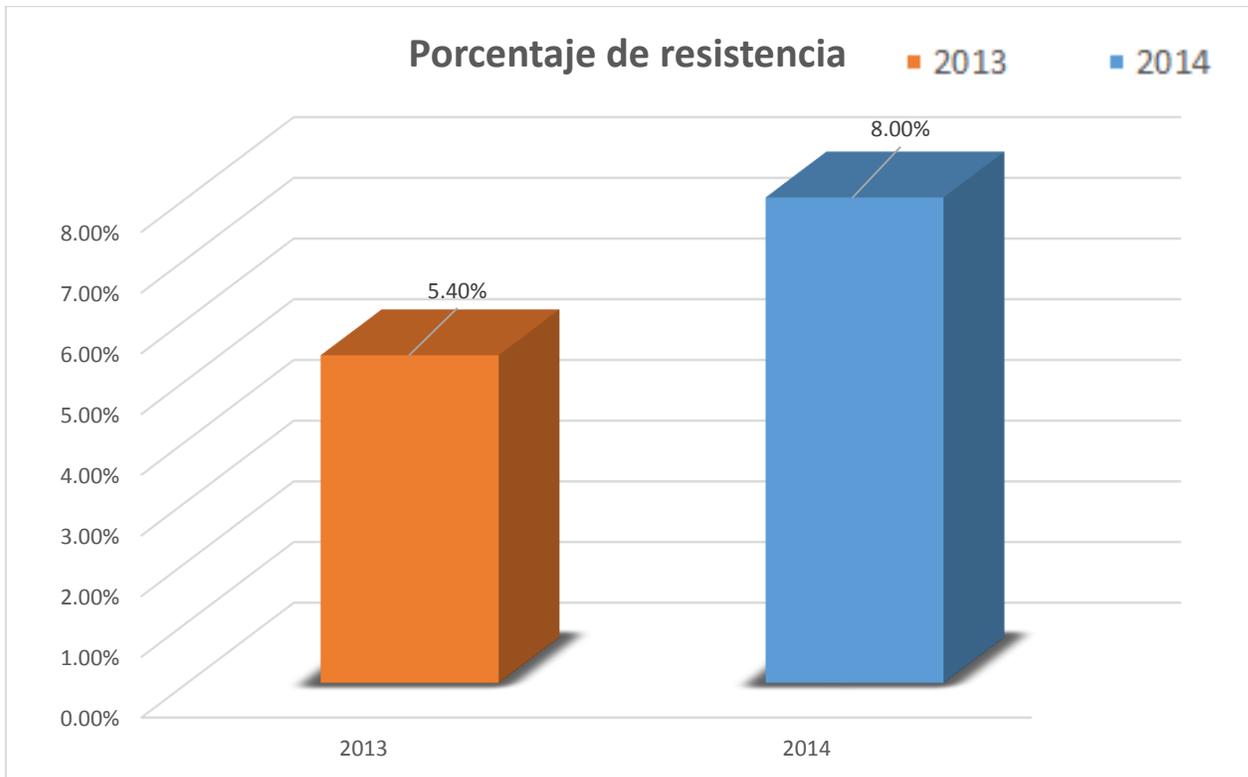
CUADRO N° 7.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A CIPROFLOXACINO POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	2	5.40%	0	0%	35	94.60%	37	100%
2014	2	8%	0	0%	23	92%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 7. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A CIPROFLOXACINO POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



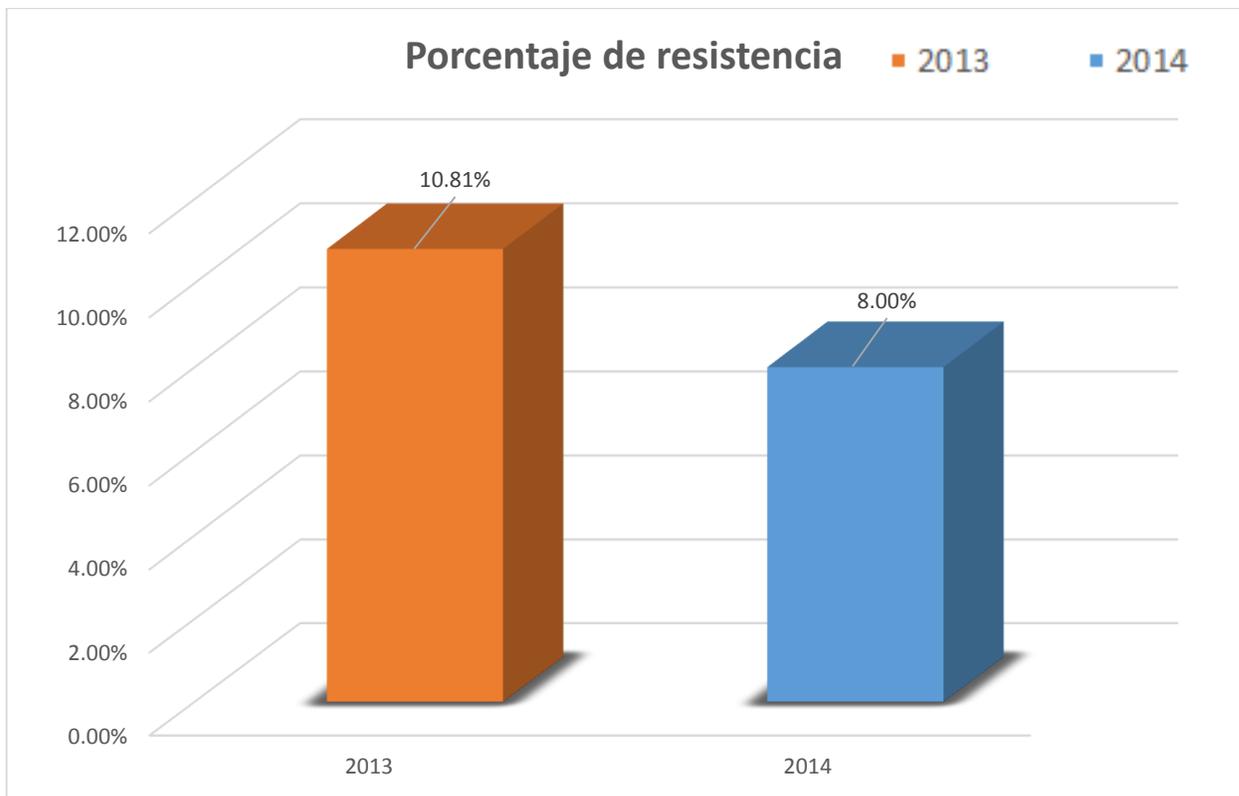
CUADRO N° 8.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A LEVOFLOXACINO POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	4	10.81%	0	0%	33	89.19%	37	100%
2014	2	8%	0	0%	23	92%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 8. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LEVOFLOXACINO POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



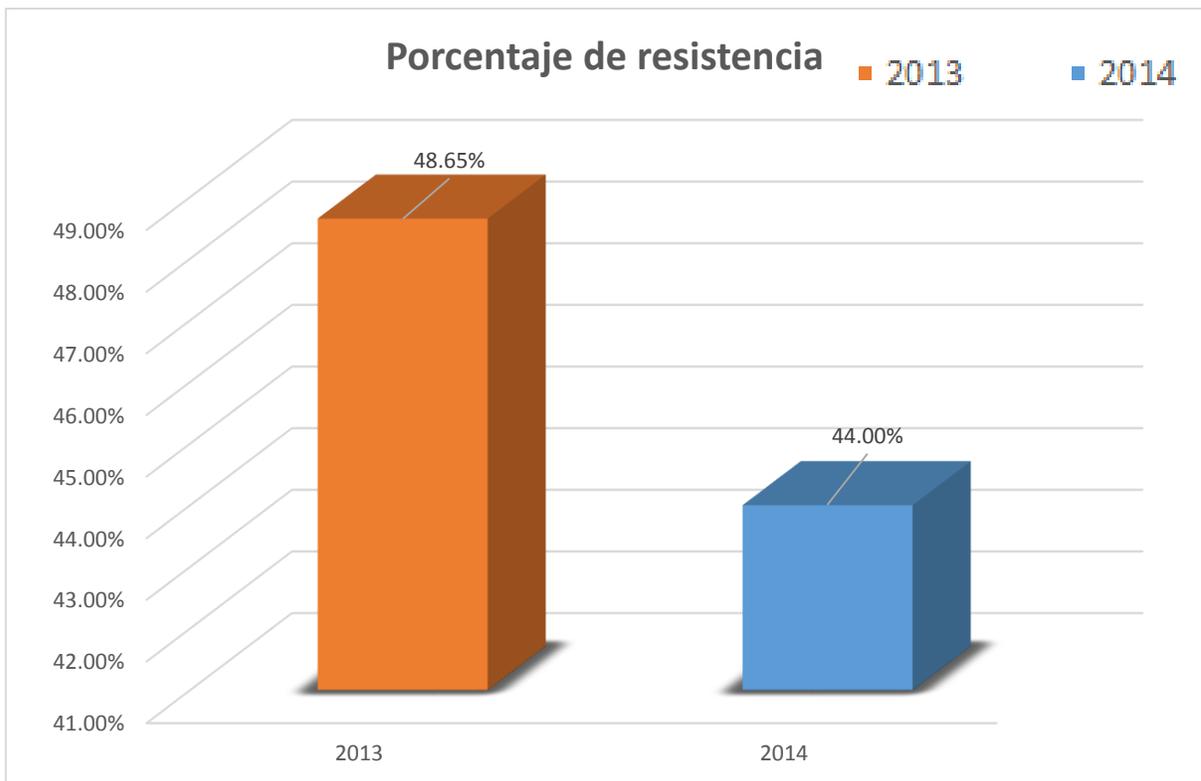
CUADRO N° 9.

FRECUENCIA DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE
UROCULTIVOS EN LOS AÑOS 2013 Y 2014.

Año	Resistente		Intermedio		Sensible		Total	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
2013	18	48.65%	0	0%	19	51.35%	37	100%
2014	11	44%	0	0%	14	56%	25	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Área de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO N° 9. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A
TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL POR *Proteus mirabilis* AISLADA DE
UROCULTIVOS DURANTE LOS AÑOS 2013 Y 2014.



ANÁLISIS DE RESULTADOS

El estudio se realizó a partir de las muestras de orina positivas a *Proteus mirabilis* provenientes de los pacientes atendidos en el Laboratorio del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom en los años 2013 y 2014. Las pruebas de identificación y susceptibilidad realizadas a los urocultivos no fueron ejecutados por el grupo de investigación, sino que los datos se obtuvieron de los registros diarios del Área de Bacteriología del Laboratorio Clínico de Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, dichos registros acumulados mensualmente y anualmente en los años antes mencionados que fueron la base de la información.

En el año 2013 el Área de Bacteriología recibió un aproximado de 7,000 solicitudes de cultivos, de los cuales se procesaron aproximadamente 2,500 boletas específicas para urocultivos; 37 cultivos fueron positivos a *Proteus mirabilis*, este dato constituye uno de los puntos de partida para efectuar el análisis de resistencia en el caso del año 2013.

Para el año 2014 el Área de Bacteriología recibió de manera general un aproximado de 10,000 solicitudes de cultivos, de los cuales 3,500 fueron solicitudes específicas para urocultivos resultando 25 cultivos positivos para *Proteus mirabilis*.

Con los datos disponibles se realizó un análisis que permitió comparar las frecuencias de resistencia de *Proteus mirabilis* a los antibióticos más comunes para los años 2013 y 2014. Los antibióticos analizados y comparados fueron: Ampicilina, Cefazolina, Ceftriazona, Gentamicina, Ciprofloxacina, Levofloxacino, Trimetoprim/Sulfametoxazol.

De todos los urocultivos positivos se separaron los cultivos que resultaron positivos a *Proteus mirabilis* luego se sumó el número de veces en que *Proteus mirabilis* presentó resistencia a cada uno de los antibióticos antes mencionados, en los cuadros #1 y #2 se presentan las frecuencias absolutas para cada uno de los antibióticos, además de la frecuencia relativa, los cuales se calcularon dividiendo el número de casos resistentes entre el total de cultivos positivos.

Como nuestros objetivos contemplan la frecuencia con que se presentó la resistencia a un antibiótico particular cada año, se procedió a muestrear en primera instancia la frecuencia de resistencia a Ampicilina por *Proteus mirabilis* en los años 2013 y 2014 (Cuadro N°3). Para el año 2013 se tabuló un total de 37 casos de los cuales 16 presentaron resistencia representando el 43.94% del total de veces que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 se tabuló un total de 25 casos de los cuales 12 presentaron resistencia, representando un 48% del total de veces que se aisló esta bacteria.

Para demostrar si existe o no diferencia estadística significativa entre la frecuencia de resistencia a antimicrobianos por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014 se utilizó el estadístico de prueba Chi cuadrado, utilizando como criterio de decisión el valor teórico de Chi cuadrado o valor crítico de 3.84, en donde todo valor calculado superior a este indica que existe diferencia estadística significativa entre un año y otro, mientras que todo valor menor o igual a este indica que no existe diferencia estadística significativa.

Los valores de Chi cuadrado calculado se exponen en el anexo N°9 en el cual a su vez expresa si existe o no diferencia estadística significativa entre la frecuencia de resistencia. Para el caso de Ampicilina podemos observar que el valor calculado de Chi cuadrado es de 0.12 el cual es menor que el valor crítico, por lo que podemos decir que no hay diferencia estadística significativa presentada por *Proteus mirabilis* al antibiótico comparada con el año 2014.

En el cuadro N°4 se presenta la frecuencia de resistencia a la Cefazolina por *Proteus mirabilis* en los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37 muestras positivas, de las cuales 17 fueron resistentes representando el 45.24% del total de veces que se aplicó ese antibiótico. Para el año 2014 se tabuló un total de 25 muestras positivas, de las cuales 13 fueron resistentes representando el 52% del total de veces que se aplicó el antibiótico, el valor calculado de Chi cuadrado para el caso de Cefazolina es de 0.28, el cual al compararlo con el valor crítico el resultado es menor que este por lo tanto no hay diferencia estadística significativa entre estos dos años.

En el cuadro N°5 se presenta la frecuencia de resistencia a Ceftriazona por *Proteus mirabilis* en los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37

muestras positivas de la cual 1 resultó resistente representando el 2.70% del total de veces que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 no hubo ningún caso de resistencia. Acá se calculó el Chi cuadrado el cual fue de 0.59 resultando menor que el valor crítico por lo tanto no hay diferencia estadística significativa entre estos dos años.

En el cuadro N°6 se presenta la frecuencia de resistencia al antibiótico Gentamicina por *Proteus mirabilis* en los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37 muestras positivas de la cual 1 resultó resistente representando el 2.70% del total de veces que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 se tabuló un total de 25 muestras positivas de las cuales 4 resultaron resistentes representando el 16% para el caso de Gentamicina, el valor calculado de Chi cuadrado es de 3.54 el cual es menor que el valor crítico por lo tanto no hay diferencia estadística significativa.

En el cuadro N°7 se presenta la frecuencia de resistencia al antibiótico Ciprofloxacino por *Proteus mirabilis* en los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37 muestras positivas, de las cuales 2 resultaron resistentes representando 5.40% del total de veces que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 se tabuló un total de 25 muestras positivas de las cuales 2 resultaron resistentes representando el 8%, para este caso el valor calculado de Chi cuadrado fue de 0.16 resultando menor que el valor crítico por lo cual no hay diferencia estadística significativa.

En el cuadro N°8 se presenta la frecuencia de resistencia al antibiótico Levofloxacino de los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37 muestras positivas de las cuales 4 resultaron resistentes representando el 10.81% del total de veces que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 se tabularon 25 muestras positivas de los cuales 2 resultaron resistentes representando el 8% del total de casos, en este caso el valor calculado de Chi cuadrado fue de 0.13 el cual es menor que el valor crítico por lo tanto no hay diferencia estadística significativa.

En el cuadro N°9 se presenta la frecuencia de resistencia al antibiótico Trimetoprim/Sulfametoxazol de los años 2013 y 2014, para el año 2013 se tabuló un total de 37 muestras de las cuales 18 resultaron resistentes representando 48.65% del total de casos que se aisló esta bacteria. Para el año 2014 se tabularon 25 muestras

positivas de las cuales 11 resultaron resistentes representando el 44%, para este caso el valor calculado de Chi cuadrado es de 0.13 resultando menor que el valor crítico por lo tanto no hay diferencia estadística significativa.

Por lo tanto según los datos obtenidos en nuestra investigación, aceptamos las hipótesis de trabajo:

- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 será del 55%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2014 será del 60%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 no presentará diferencia estadística significativa con relación al año 2014.

Y rechazamos las hipótesis nulas:

- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 será del 45%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2014 será del 40%.
- La frecuencia de resistencia a los 7 principales antimicrobianos utilizados en la tarjeta de susceptibilidad bacteriana de *Proteus mirabilis* en el año 2013 presentará diferencia estadística significativa con relación al año 2014.

CONCLUSIONES.

A partir del análisis de los resultados se concluye:

- La frecuencia de resistencia a Ampicilina por *Proteus mirabilis* fue menor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Ampicilina por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.
- La frecuencia de resistencia a Cefazolina por *Proteus mirabilis* fue menor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Cefazolina por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.
- La frecuencia de resistencia a Ceftriazona por *Proteus mirabilis* fue mayor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Ceftriazona por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.
- La frecuencia de resistencia a Gentamicina por *Proteus mirabilis* fue menor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Gentamicina por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.
- La frecuencia de resistencia a Ciprofloxacina por *Proteus mirabilis* fue menor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Ciprofloxacina por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.

- La frecuencia de resistencia a Levofloxacino por *Proteus mirabilis* fue mayor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Levofloxacino por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.
- La frecuencia de resistencia a Trimetoprim/Sulfametoxazol por *Proteus mirabilis* fue mayor en el 2013 con relación al 2014.
- Se demostró que no existe diferencia estadística significativa al comparar las frecuencias de resistencias a Trimetoprim/Sulfametoxazol por *Proteus mirabilis* entre los años 2013 y 2014.

RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud:

- Que mejore el abastecimiento mínimo de antibióticos necesarios para el tratamiento de las Infecciones de las Vías Urinarias.
- Que implemente una mejor vigilancia sobre la venta libre de antimicrobianos a través de entidades y personal idóneo.
- Para que ejecute a través de las instituciones correspondientes programas de vigilancia, seguimiento y actualización periódica sobre el apareamiento de cepas resistentes a los antibióticos en el país y realice controles de calidad a los medicamentos a utilizar en la red pública.

Al personal médico:

- Mantener una supervisión sobre la indicación de antimicrobianos apropiados según los resultados del antibiograma para impedir decisiones erróneas en los antibióticos a utilizar.

A los Profesionales en Laboratorio Clínico:

- Una mejor implementación de las diferentes técnicas y procedimientos estandarizados al momento de realizar la identificación de agentes bacterianos y sus correspondientes antibióticos.
- Para que se mantengan en constante esfuerzo de actualización sobre las variaciones de resistencia que le beneficiará para la realización de nuevos estudios.

A la Universidad de El Salvador:

- Que genere más investigaciones sobre este tipo de tema.

REFERENCIAS.

- ARGUETA, JOSÉ ALBERTO. 2012. El propósito de las partes de un proyecto y de un informe de investigación. Material, mimeografiado.
- CLARA TERESA VARELA A. 2008. Comparación de la resistencia al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas a nivel internacional, con historias clínicas del servicio de urgencias del Hospital San Ignacio del año 2007. Bogotá, Colombia.
- CYNTHIA RODRÍGUEZ, MARCELA RADICE, ET AL. 2005. Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos a cefalosporina de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. Revista Enfermedades infecciosas de Microbiología Clínica. Universidad de Buenos Aires, Argentina. Página 123.
- J. VANDEPITTE ET AL. 1993. Métodos básicos de laboratorio en bacteriología clínica. 2 Edición, Editorial Organización Mundial de la Salud, Geneva. Páginas 78, 79, 80, 82.
- MATTHEW A. WIKLER, FRANKLIN R. COCKERRILL, BARBARA M. ZIMMER, ET AL. 2007. Normas de funcionamiento de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos; suplemento informativo XVII. Instituto de Estándares Clínicos y de laboratorio (Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. Clinical and laboratory standards institute), Pennsylvania, USA. Páginas 22, 23.

- MERCEDES TREVIÑO, NAVARRO, BARBEITO. 2002, *Proteus mirabilis* productor de AmpC plasmídica en el área de Santiago de Compostela: prevalencia y caracterización molecular por rep-PCR y MALDI-TOF MS. *Revista Española Quimioterapia*. España. Página 122
- MURRAY, PATRICK R. 2013. *Microbiología médica 7 Edición*, Editorial Elsevier. Madrid, España. Páginas 165-171.
- Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid; 2 Unidad de Microbiología. Laboratorio de Salud Pública. Ayuntamiento de Madrid. España.
- TORRES RUBIN, MIGUELF. 1996. *Manual práctico de bacteriología médica 2º edición*. Editorial. Serviprensa C.A. Guatemala Páginas 79, 81-83.
- WEBER ESTRADA, NATALIA. 2012. Estudio retrospectivo sobre resistencia antibiótica en la población del área de salud de la unión entre Enero y Diciembre 2010. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXIX (600)* 41-42.

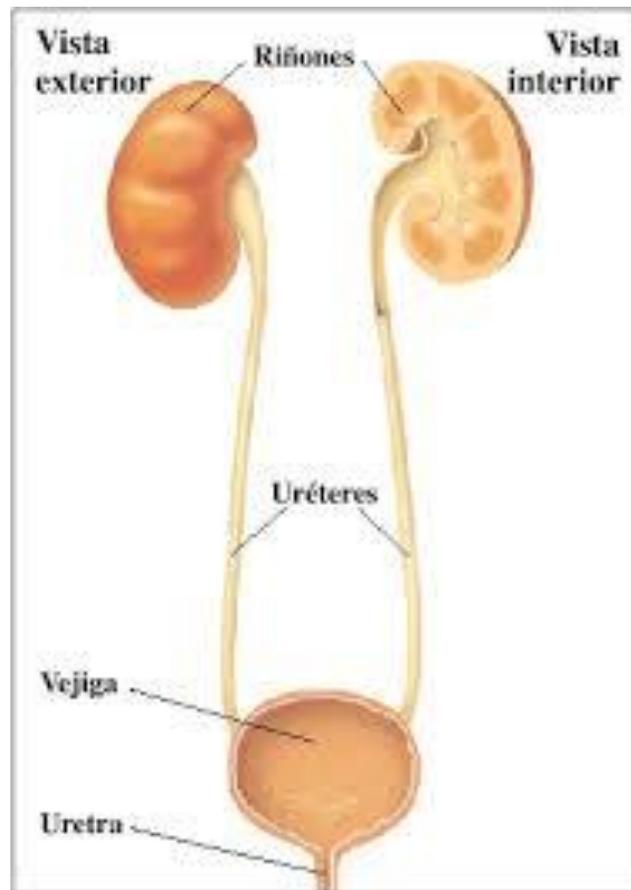
Sitios Web consultados.

- Enero 2015; páginas 3, 5, 27 www.unavarra.es/genmic/microclinica/tema03.pdf
- Infecciones de vías urinarias; Febrero 2015; páginas 10, 12
medicinainterna.wikispaces.com/infecciondelasviasurinarias
- Infecciones de vías urinarias, Febrero de 2015; página 607
www.webconsultas.com/categorias/salud-infeccionesurinarias

ANEXOS

ANEXO 1

Sistema Urinario



ANEXO 2

Factores de riesgo para infección del tracto urinario complicada.

Hombres
Niños
ITU nosocomial
Sondaje vesical permanente
Alteraciones funcionales o estructurales de la vía urinaria
Obstrucción de la vía urinaria
Embarazo
Diabetes
Inmunodepresión
Enfermedades o daño neurológico que altere el funcionamiento vesical
Fracaso terapéutico
Recaídas
ITU recurrente en la infancia

ITU: Infección de Vías Urinarias.

ANEXO 3

TOMA DE MUESTRAS PARA UROCULTIVOS

Si en algún examen bacteriológico la toma de muestras es crucial para obtener un resultado de cultivo con correlación clínica es en el urocultivo. El meato urinario siempre está colonizado por bacterias saprófitas tanto en el hombre como en la mujer, por esta razón los genitales deben desinfectarse antes de la toma de la muestra cómo se detalla a continuación:

Toma de urocultivo en el hombre:

- Desinfectar bien la punta del pene del paciente con una gasa estéril empapada en jabón antiséptico no irritante. Remover el jabón con otra gasa estéril, empapado en agua estéril.
- Pedir al paciente que orine directamente en la tasa del sanitario.
- Después de transcurrido de 3 a 5 segundos, destapar rápidamente pero con cuidado un frasco estéril de boca ancha y tomar “al vuelo” una muestra de orina de la parte central de la micción. Se deja correr la primera porción de orina para que remueva las bacterias de la parte anterior del meato urinario, que contaminará el urocultivo. Tapar rápidamente el frasco.
- Si no es posible inocular el urocultivo antes de una hora de obtenida la muestra, refrigerarla (no congelar). La muestra conservada en refrigeración se mantiene en buenas condiciones para ser inoculada, por un máximo de 48 horas.

Toma de urocultivo en la mujer:

En el caso de la mujer, debe observarse especial cuidado en la toma de muestra, ya que sus genitales no están expuestos y están abundantemente colonizados por bacterias. Proceder así:

- Solicitar que se coloque sobre la tasa del inodoro con las piernas abiertas. Con los dedos índices y medio de la mano izquierdo debe separarse los labios genitales mayores.
- Con una gasa empapada en jabón antiséptico no irritante limpiar bien todo el área y luego remover el jabón con otra gasa empapada en agua estéril.
- Obtener la muestra de orina “al vuelo” que corra el chorro de orina unos segundos y luego tomar de la porción central de la micción. Tapar rápidamente.
- Sembrar antes de una hora o refrigerar la muestra.

Toma de urocultivos en niños:

- En los niños desinfectar bien, todo el pene y el área genital. En las niñas desinfectar bien los labios mayores y el área genital que los rodea.
- Pegar una bolsita de plástico estéril y descartable, especial para tomar urocultivos infantiles. En los niños tener la precaución de introducir todo el pene en el orificio del llenado y en las niñas que el agujero de la bolsita quede pegado al centro por donde saldrá la orina.
- Se le pide a la madre que espere hasta que orine. Algunos procedimientos que aceleran la micción son: dar agua, leche, bebidas, etc. Aplicar presión sobre la vejiga.



Punción supra púbica:

Es la obtención de la muestra de orina por medio de punción directa a la vejiga, con una aguja larga. Por ser un procedimiento delicado que conlleva algunos riesgos debe hacerse solo por el médico.

PROCEDIMIENTO

- 1) Ya que la muestra ha sido colectada siguiendo exactamente las instrucciones anteriores, sembrar la orina en dos medios de cultivo: Agar sangre (sangre de carnero al 5%) y Agar Mac Conkey.
- 2) Para sembrar usar una asa calibrada de platino y tome 0.001 ml agitar el frasco de orina, abrir delante del mechero y flamear la boca del mismo. Introducir verticalmente el asa flameada y fría en la orina, justamente por debajo de la superficie.
- 3) Inocular primero el agar sangre deslizando el asa una sola vez a lo largo de la placa y pasando por el centro. De igual forma en el agar Mac Conkey.
- 4) Inmediatamente estriar con asa corriente en anillo el inoculo de orina, haciendo estrías tupidas y perpendiculares al estría dejada por el asa calibrada.
- 5) Incubar a 36°C.

CARACTERISTICAS DEL FRASCO PARA UROCULTIVOS.

- Debe de ser de plástico.
- Tapa roscada
- Limpio y estéril
- Capacidad para 100ml
- Espacio libre para escritura (colocar nombre y registro del paciente)



MEDIOS DE CULTIVOS UTILIZADOS.

Agar sangre:

El agar sangre aporta mucho de los factores de enriquecimiento, se usa para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos.

Agar Mac conkey:

Sirve como indicador visual de pH, distinguiendo así las bacterias Gram negativas que fermentan la lactosa y las que no producen.

ANEXO 4

Género *Proteus*

(Definido como Gram negativo móvil)



Proteus mirabilis en coloración de Gram



ANEXO 5

Fenómeno de Swarming



Fenómeno muy conocido en el cuál se pone en evidencia la presencia de velos o películas de crecimiento en el entorno de las colonias

ANEXO 6

Prueba de sensibilidad por el método de Kirby-Bauer modificada.

Por medio de esta técnica se obtienen resultados confiables, reproducibles y de gran utilidad clínica siempre y cuando se sigan al pie de la letra las indicaciones de este. Es una técnica relativamente sencilla que siempre se debe efectuar con el agar Mueller-Hinton; el grosor de la caja de Petri, concentración del inóculo, humedad, temperatura y otros factores deben estar perfectamente estandarizados para que los resultados puedan ser comparables entre los diversos laboratorios. Es muy importante tomar en cuenta que esta técnica solo sirve para efectuar el antibiograma de las siguientes bacterias aeróbicas o facultativas de crecimiento rápido:

- ❖ *Staphylococcus aureus*
- ❖ *Enterobacterias*
- ❖ *Pseudomonas*

El antibiograma para *Haemophilus spp.* Y *Neisseria spp.* Debe hacerse en agar Mueller-Hinton con 5% de sangre, “achocolatado”.

Preparar el agar Mueller-Hinton según las indicaciones del productor y con las siguientes características:

1. Las cajas de Petri de tamaño estándar (100 mm de diámetro), deben llenarse con aproximadamente 25 ml del agar líquido ya autoclaveado, a manera de dar con un medio de 4 mm de espesor. Idealmente deben usarse cajas de Petri descartables de plástico, de 150 mm de diámetro con la misma profundidad, para poder colocar los discos más separados entre sí.
2. Deben guardarse en refrigeración dentro de bolsas plásticas selladas en temperatura entre los 2 y 8 °C, por no más de 7 días.

3. El pH del medio deber ser de 7.2 a 7.4. Medir el pH del medio con un potenciómetro. Dejar solidificar un poco del medio dentro de un pequeño beaker alrededor del electrodo del aparato, ajustar si es necesario, antes de autoclavar, con NaOH 1N o con HCl 1N.
4. De cada lote del medio, incubar dos cajas por 24 horas a 36°C para comprobar su esterilidad. Descartar estas cajas ya que estas no son adecuadas para efectuar el antibiograma después de ser incubadas.
5. Inmediatamente antes de usar el medio Mueller-Hinton, secarlo a 36 °C. colocar las cajas en la incubadora por 20 minutos con el medio hacia arriba y la tapadera ligeramente abierta.

Almacenaje de discos con antibióticos.

Para que el procedimiento proporcione datos con verdadera correlación clínica, en primer lugar debe tomarse la siguiente precaución para el almacenaje de los discos de papel impregnado con los diferentes antibióticos, que se obtienen comercialmente.

1. Almacenar los discos de acuerdo con las siguientes instrucciones, para que no pierdan su potencia:
2. Congelar: idealmente a -20°C, los discos de penicilina, ampicilina, carbenicilina y cefalosporinas. Descongelar periódicamente solo los discos que serán utilizados durante la semana. Descongelarlos por lo menos dos horas antes de usarlos.
3. Los discos del resto de antibióticos pueden almacenarse refrigerados sin congelación. De preferencia con una pastilla desecante.
4. Si se usan los cartuchos de discos montados en dispensador, introducir dos pastillas desecantes de las que vienen con los discos y cerrar bien después de usar.

Procedimiento.

Efectuar el antibiograma así:

1. Con el asa flameada y fría, tomar 4 a 5 colonias bien aisladas y de igual morfología del cultivo original en cualquier medio sólido. Debe trasladarse siempre un cultivo puro.
2. Inocular el tubo con 4 ml de caldo de tripticasa soya o caldo infusión cerebro corazón.
3. Incubar el caldo de 2 a 5 horas a 36°C, hasta que aparezca una ligera turbidez.
4. Ajustar la turbidez del caldo a la escala de turbidez del estándar de McFarland 0.5. si el caldo es más turbio que el estándar agregarle más caldo o solución salina estéril. Comparar ambos tubos con buena luz y frente a un fondo blanco con una línea negra para evaluar visualmente la turbidez. Preparar el estándar 0.5 de la escala de McFarland así: mezclar 0.5 ml de cloruro de bario 0.048 M, más 99.5 ml de ácido sulfúrico 0.36N. llenar los tubos que cierren bien, sellarlos, guardarlos en la oscuridad con fecha. Hacer nuevo estándar cada 6 meses.
5. Antes de 15 minutos de diluidos los caldos, inocular la caja pre secada de agar Mueller-Hinton así: introducir un hisopo estéril en el caldo con turbidez igual al estándar; exprimir bien el hisopo presionándolo firmemente contra las paredes del tubo, arriba del nivel del caldo.
6. Con el hisopo exprimido sembrar la caja en tres direcciones opuestas sobre toda la superficie, cerca del mechero encendido. En caso de emergencia puede inocularse la muestra directamente, solo si el Gram revela una sola clase de bacteria (Líquido Cefalorraquídeo o secreciones varias), pero esto debe evitarse y considerarse preliminar.

7. Dejar secar la caja durante 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos, con la tapadera cerrada.
8. Con pinzas estériles o dispensador especial, colocar los discos impregnados con los antibióticos a manera que queden lo más separados entre sí. Con las pinzas flameadas y frías presionar los discos ya colocados para adherirlos bien al medio de cultivo. Escoger los antibióticos a colocar dependiendo de la bacteria estudiada, según el listado básico actualizado de cada laboratorio. Es preferible utilizar discos comerciales.
9. Invertir las cajas e incubarlas de 16 a 18 horas a 36 °C, nunca usar jarro con candela (a excepción que se trabaje con *Haemophilus spp.* Y *Neisseria spp.*).

Interpretación de los resultados.

1. Después de 16 a 18 horas de incubación, examinar con buena luz las cajas ya crecidas.
2. Medir en milímetros el diámetro de los halos de inhibición completa con una regla por detrás de la caja de Petri o con los patrones especiales. No tomar en cuenta escasas colonias separadas dentro del halo de inhibición o crecimiento muy débil. Sin embargo, si se observan múltiples colonias dentro del halo de inhibición, estas deben subcultivarse para descartar contaminación. En caso de tratarse de la misma bacteria que se analiza, repetir el antibiograma de las colonias que han crecido dentro del halo. El “velo” de crecimiento de *Proteus sp.* dentro del halo, tampoco debe tomarse en cuenta. Medir siempre hasta el margen donde se inicia el crecimiento grueso.
3. En caso de sulfonamidas, puede ocurrir crecimiento dentro del halo, el cual no debe tomarse en cuenta.
4. En caso de urgencia puede efectuarse la lectura preliminar después de 5 a 6 horas de incubación, siempre y cuando la caja de Petri se reincube y posterior mente se envíe el informe definitivo.

5. Transformar las medidas de los diámetros a: resistente, intermedio, moderadamente susceptible o susceptible por medio del uso de tablas actualizadas. Se deben utilizar las tablas de interpretación que son oficiales en Estados Unidos para la Estandarización del Laboratorio Clínico (NCCLS).

ANEXO 7

Grupos básicos de medicamentos para las pruebas sistémicas de sensibilidad.

<i>Staphylococcus</i>		<i>Enterobacteriaceae</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	intestinales	urinarias	De sangre y tejidos		
Grupo 1	Bencilpenicilina	Ampicilina	Sulfamida	Ampicilina	Piperacilina Gentamicina Tobramicina
Medicamentos de elección	Oxacilina	Cloranfenicol	Trimetoprima	Cloranfenicol	
	Eritromicina	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	
	Tetraciclina	Ácido nalidixico	Ampicilina	Tetraciclina	
	Cloranfenicol	Tetraciclina	Nitrofurantoina Ácido nalidixico Tetraciclina	Cefalotina Gentamicina	
Grupo 2	Gentamicina	Norfloxacino	Norfloxacino	Cefuroxina	Amikacina
Medicamentos suplementarios	Amikacina		Cloranfenicol	Ceftriaxona	
	Cotrimoxazol		Gentamicina	Ciprofloxacino	
	Clindamicina			Piperacilina Amikacina	

ANEXO 8

FUNDAMENTO DEL SISTEMA VITEK:

La capacidad del sistema VITEK para analizar las cepas bacterianas obtenidas de los especímenes clínicos depende de los substratos e inhibidores especiales que contienen cada tipo de tarjeta, los cuales son utilizados para promover o inhibir el crecimiento bacteriano.

Cada tarjeta es inoculada con una suspensión bacteriana a probar, estandarizando a la turbidez con el nefelómetro de McFarland y de acuerdo al tipo de tarjeta de identificación que se haya elegido. De esta misma suspensión se toma un volumen determinado para realizar una dilución en otro tubo y realizar la inoculación de la o las tarjetas elegidas para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.

Las tarjetas son procesadas en el módulo de llenado y sellado, posteriormente son colocadas en el módulo lector, a partir de ese momento y cada hora lee, interpreta y registra (sistema cinético) cada uno de los pocillos de la tarjeta, pasando la información al procesador para su interpretación en la base de datos. En el momento en que llega una conclusión (2 o 18 horas) el registro pasa automáticamente al archivo del paciente o en el caso de alguna diferencia se retiene en la pantalla de proceso de tarjetas para su verificación y validación.

TARJETAS DE IDENTIFICACIÓN.

La interpretación de los substratos (bioquímicas) de las tarjetas de identificación se realiza por medio del procesador, el cual permite una identificación automática de los microorganismos en su base de datos. No requieren de adición de reactivos reveladores y ocasionalmente requiere de alguna prueba en forma externa.

TARJETAS DE SUSCEPTIBILIDAD.

El lector lee, interpreta y registra la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano, expresado por el grado de turbidez detectado cada hora y en cada uno de los pocillos que conforman una tarjeta, tomando como base un pocillo control (propio de cada tarjeta) y así determina la concentración mínima inhibitoria para cada uno de los antimicrobianos que contiene la tarjeta para la cepa bacteriana probada. Para la identificación de bacilos Gram negativos con de 3 a 6 horas y para los cocos de 4 a 8 horas.

Las tarjetas de identificación y escrutinio más utilizadas son:

- ✓ GNI (Gram negativos)
- ✓ GPI (Gram positivos)
- ✓ YBC (Levaduras)
- ✓ ANI (Anaerobios)
- ✓ EPS (Enteropatógenos)

Las que se utilizan para la susceptibilidad antimicrobiana son:

- ✓ GNS (Gram negativos)
- ✓ GPS (Gram positivos)

Cada caja tiene 20 tarjetas que se deben almacenar entre 2-8 grados centígrados y es importante que no se congele

PROCEDIMIENTO TÉCNICO.

- ✓ Preparar el inóculo.
- ✓ Resuspender la colonia.
- ✓ Ajustar al estándar de McFarland adecuado.
- ✓ Colocar las tarjetas con sus respectivo inóculo al módulo de llenado.
- ✓ Sellar las tarjetas y colocarlas en el módulo incubador/lector.
- ✓ Esperar los resultados.

SISTEMA VITEK

TARJETAS DE IDENTIFICACION
Y SUCEPTIBILIDAD



ANEXO 9.

RESULTADOS DE VALORES DE CHI CUADRADO (χ^2).

VALOR DE χ^2 PARA AMPICILINA.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	total
2013	16 A	21 B	37
2014	12 C	13 D	25
Total	28	34	62

	Fo	Fe	Fo-Fe	$(Fo-Fe)^2$	$(Fo-Fe)^2/Fe$
A	16	16.71	-0.71	0.51	0.03
B	21	20.29	0.71	0.51	0.02
C	12	11.29	0.71	0.51	0.04
D	13	13.71	-0.71	0.51	0.04
				Total	0.12

VALOR DE χ^2 PARA CEFAZOLINA.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	total
2013	17 ^A	19 ^B	36
2014	13 ^C	11 ^D	24
Total	30	30	60

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	17	18	-1	1	0.06
B	19	18	1	1	0.06
C	13	12	1	1	0.08
D	11	12	-1	1	0.08
				Total	0.28

VALOR DE χ^2 PARA CEFTRIAZONA.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	Total
2013	1 ^A	27 ^B	28
2014	0 ^C	17 ^D	17
Total	1	44	45

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	1	0.62	0.38	0.14	0.22
B	27	27.38	-0.38	0.14	0.005
C	0	0.38	-0.38	0.14	0.36
D	17	16.62	0.38	0.14	0.08
				Total	0.59

VALOR DE χ^2 PARA GENTAMICINA.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	Total
2013	1 ^A	36 ^B	37
2014	4 ^C	21 ^D	25
Total	5	57	62

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	1	2.98	-1.98	3.92	1.32
B	36	34.02	1.98	3.92	0.11
C	4	2.02	1.98	3.92	1.94
D	21	22.98	-1.98	3.92	0.17
				Total	3.54

VALOR DE χ^2 PARA CIPROFLOXACINO.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	Total
2013	2 ^A	35 ^B	37
2014	2 ^C	23 ^D	25
Total	4	58	62

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	2	2.38	-0.38	0.14	0.06
B	35	34.61	0.39	0.15	0.004
C	2	1.61	0.39	0.15	0.09
D	25	23.38	-0.38	0.14	0.006
				Total	0.16

VALOR DE χ^2 PARA LEVOFLOXACINO.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	Total
2013	4 ^A	33 ^B	37
2014	2 ^C	23 ^D	25
Total	6	56	62

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	4	3.58	0.42	0.18	0.05
B	33	33.42	-0.42	0.18	0.005
C	2	2.42	-0.42	0.18	0.07
D	23	22.58	0.42	0.18	0.007
				Total	0.13

VALOR DE χ^2 PARA TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL.

Variable dependiente Variable independiente	Resistente	Sensible	Total
2013	18 ^A	19 ^B	37
2014	11 ^C	14 ^D	25
Total	29	33	62

	Fo	Fe	Fo-Fe	(Fo-Fe) ²	(Fo-Fe) ² /Fe
A	18	17.31	0.69	0.48	0.03
B	19	19.69	-0.69	0.48	0.02
C	11	11.69	-0.69	0.48	0.04
D	14	13.31	0.69	0.48	0.04
				Total	0.13