



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS
INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA
BACTERIA *E COLI* EN UROCULTIVOS”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

Autor: Ulloa Gaibor, Freddy David

Tutora: Dra. Paguay Muñoz, Gabriela Jacqueline

Ambato – Ecuador

Junio, 2015

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema: **“ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA BACTERIA *E COLI* EN UROCULTIVOS”** de Freddy David Ulloa Gaibor, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Abril del 2015

LA TUTORA

.....
Dra. Paguay Muñoz, Gabriela Jacqueline

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación “**ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA BACTERIA *E COLI* EN UROCULTIVOS**”, como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones y propuesta son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de éste Trabajo de Grado.

Ambato, Abril del 2015

EL AUTOR

.....
Ulloa Gaibor, Freddy David

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato para que se haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimonial de mi tesis en fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de esta tesis dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Abril del 2015

EL AUTOR

.....
Ulloa Gaibor, Freddy David

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema: **“ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA BACTERIA *E COLI* EN UROCULTIVOS”**, de Freddy David Ulloa Gaibor, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Junio del 2015

Por constancia firman:

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

A mis padres

Guillermo Ulloa y Blanca Gaibor, por qué confiaron en mí desde siempre en cada una de las metas que me propuse, como lo es esta una de ellas, por no renunciar cuando más los necesite, por darme la mano y ayudarme a seguir adelante fuerte y decidido, eso es algo que nunca olvidare y que siempre valorare, por haberme formado con altas normas morales y principios, con respeto, fortaleza y amor, Lo dedico a ustedes ya que gracias a ustedes eh alcanzado este paso importante en mi vida.

A mis hermanos

Franklin Ulloa y Jenny Ulloa, por todo el apoyo que me supieron brindar de una u otra manera, por brindarme su confianza y cariño, les estoy eternamente agradecido.

A mi esposa

Elizabeth Erazo, por estar siempre junto a mí, dándome su apoyo, confianza, y amor, recordándome las razones para salir adelante, por darme la fortaleza que necesito para seguir avanzando, gracias por todo lo que ha hecho y sigue haciendo por mí.

A mi hijo

Joseph Ulloa, es la más grande razón de mi vida, por él es por quién lucho, por quién me esfuerzo, para poder darle un futuro digno, y suministrarle las herramientas necesarias para poder sobrevivir en este mundo.

Ulloa Gaibor, Freddy David.

AGRADECIMIENTO

Mi gratitud principalmente va hacia Dios por darme la vida para lograr todas mis metas, por darme la guía y orientación.

Agradezco de manera en general:

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, a los Docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico, así como a la Dra. Gabriela Paguay, Ing. Mónica Caiza y Lcda. Dolores Salazar, por el apoyo y guía recibido para la realización del trabajo de investigación.

A todas las personas que colaboraron de una u otra forma para la culminación de este logro obtenido.

Ulloa Gaibor, Freddy David.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
SUMMARY	xviii
INTRODUCCIÓN	1
VOCABULARIO.....	3
ABREVIATURAS.....	4

CAPÍTULO I

1.1	TEMA DE INVESTIGACIÓN	5
1.2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.2.1	CONTEXTUALIZACIÓN.....	5
1.2.2	ANÁLISIS CRÍTICO.....	7
1.2.3	PROGNOSIS.....	8
1.2.4	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	8
1.2.5	PREGUNTAS DIRECTRICES.....	9
1.2.6	DELIMITACIÓN	9
1.3	JUSTIFICACIÓN.....	10
1.4	OBJETIVOS.....	11
1.4.1	OBJETIVO GENERAL	11
1.4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11

CAPÍTULO II

2.1	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	12
2.2	FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	15
2.3	FUNDAMENTACIÓN LEGAL	16
2.4	CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	18
2.4.1	MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS	19
2.4.2	TURBIDIMETRÍA	24
2.4.3	MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS INÓCULOS	25
2.4.4	TÉCNICAS BACTERIOLÓGICAS	29
2.4.5	PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	65
2.4.6	ANTIBIOGRAMA.....	67
2.5	HIPÓTESIS	79
2.6	SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES	79

CAPÍTULO III

3.1	ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN	80
3.2	MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	80
3.3	NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	81
3.4	POBLACIÓN Y MUESTRA	81
3.5	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	83
3.6	PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	85
3.7	PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	87

CAPÍTULO IV

4.1	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN	92
4.1.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES	92
4.1.1.1	GÉNERO.....	92
4.1.1.2	EDAD.....	94
ANÁLISIS DE LAS VARIACIONES PRESENTADAS EN LA SUSCEPTIBILIDAD DEL ANTIBIOGRAMA TOMANDO COMO REFERENCIA EL USO DE TURBIDÍMETRO.....		95

CEFALOTINA.....	96
OFLOXACINA.....	97
NORFLOXACINA	98
NITROFURANTOÍNA	99
TRIMETOPRIMA/SULFAMETOXAZOL.....	100
4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS	101

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES	105
5.2 RECOMENDACIONES	106

CAPÍTULO VI

6.1 DATOS INFORMATIVOS	109
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	110
6.3 JUSTIFICACIÓN.....	111
6.4 OBJETIVOS.....	112
6.4.1 OBJETIVO GENERAL	112
6.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	112
6.5 FACTIBILIDAD	112
6.6 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA.....	113
6.7 ADMINISTRACIÓN DE LA PROPUESTA	115
6.8 MODELO OPERATIVO	116
6.9 PLAN DE MONITOREO Y EVALUACIÓN	117
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
ANEXOS	123

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Categorías Fundamentales	18
Gráfico 2. Difusión de la luz en solución verdadera y dispersión coloidal.....	23
Gráfico 3. Estándares de turbidez de formazin expresados en NTU	24
Gráfico 4. Diseño óptico de un turbidímetro y nefelómetro	26
Gráfico 5. Medición de la turbidez mediante la observación visual frente a Escala 0,5 McFarland con fondo blanco y líneas negras horizontales de contraste	28
Gráfico 6. Turbidímetro	29
Gráfico 7. Preparación en fresco de una muestra	30
Gráfico 8. Observación de placa teñida con de azul de metileno	32
Gráfico 9. Bacterias con tinción de fucsina fenicada básica	33
Gráfico 10. Observación de hifas de hongo con tinción de Gram	36
Gráfico 11. Parásitos observados con tinción de Giemsa	37
Gráfico 12. Tinción de Giemsa. Bacilos ácido alcohol resistentes	38
Gráfico 13. Esquema general de diferenciación de bacterias de interés clínico Gram negativas.....	43
Gráfico 14. Esquema general de diferenciación de bacterias de interés clínico Gram positivas	44
Gráfico 15. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos <i>Streptococcus</i> con alfa-hemolisis	46
Gráfico 16. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos <i>Streptococcus</i> con beta-hemolisis	47
Gráfico 17. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos <i>Streptococcus</i> con gamma-hemolisis	48
Gráfico 18. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos <i>Micrococcus</i>	49
Gráfico 19. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos <i>Staphylococcus</i>	50
Gráfico 20. Clave diferencial de bacilos cortos, cocos en parejas o cadenas Gram negativos	52
Gráfico 21. Características diferenciales de especies <i>Moraxella</i>	53

Gráfico 22. Características diferenciales de especies <i>Neisseria</i>	54
Gráfico 23. Clave diferencial de Bacilos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos	56
Gráfico 24. Clave diferencial de Bacilos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos catalasa positivo	57
Gráfico 25. Clave diferencial de bacilos Gram negativos aerobios o facultativos	58
Gráfico 26. Porcentaje de los pacientes de acuerdo al género de los que procedieron las muestras de orina	93
Gráfico 27. Distribución de la población por grupos de edad	94
Gráfico 28. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para el antibiótico Cefalotina mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro	96
Gráfico 29. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para el antibiótico Ofloxacina mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.....	97
Gráfico 30. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para el antibiótico Norfloxacina mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro	98
Gráfico 31. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para el antibiótico Nitrofurantoína mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro	99
Gráfico 32. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para el antibiótico SXT mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.....	100

Gráfico 33. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria para los antibióticos Cefalotina, Ofloxacina, Norfloxacina, Nitrofurantoína y Trimetoprima/Sulfametoxazol.....	102
Gráfico 34. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria <i>E. coli</i> de procedencia urinaria, utilizando la comparación visual en contraste con el uso de turbidímetro	103
Gráfico 35. Discos antimicrobianos usados para antibiograma procedente de urocultivos	129
Gráfico 36. Colonias aisladas de <i>E. coli</i>	129
Gráfico 37. Equipo Turbidimétrico utilizado, control del equipo frente a solución salina	130
Gráfico 38. Equipo Turbidimétrico utilizado, control del equipo frente a escala 0,5 de McFarland	130
Gráfico 39. Lectura de la escala 0,5 de McFarland.....	131
Gráfico 40. Lectura turbidimétrica del inóculo bacteriano	131
Gráfico 41. Comparación visual del inóculo bacteriano junto a la escala 0,5 de McFarland	132
Gráfico 42. Estriamiento del inóculo en la caja con agar Mueller Hinton.....	132
Gráfico 43. Colocación de discos antimicrobianos	133
Gráfico 44. Colocación de cajas Petri en la estufa bacteriológica	133
Gráfico 45. Cajas Petri inoculadas a partir del método turbidimétrico y comparación visual.....	134
Gráfico 46. Lectura de los halos de inhibición	134

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Métodos Espectrométricos	21
Tabla 2. Criterios en el diseño óptico para un turbidímetro o nefelómetro	25
Tabla 3. Propuesta de agrupación de los antimicrobianos con indicaciones clínicas de la FDA que deben incluirse en las pruebas de susceptibilidad y notificaciones sistemáticas para los microorganismos cuyo cultivo no es exigente, en los laboratorios clínicos de microbiología en los Estados Unidos	69
Tabla 4. Normas para la interpretación del diámetro del halo de inhibición y puntos de corte equivalente de concentración inhibitoria mínima para Enterobacteriaceae	71
Tabla 5. Pruebas de detección y de confirmación de producción de betalactamasa de espectro extendido en <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Proteus mirabilis</i>	76
Tabla 6. Métodos para medir la turbidez de los inóculos.....	83
Tabla 7. Antibiograma	84
Tabla 8. Procedimientos para la recolección de información	86
Tabla 9. Modelo operativo	116
Tabla 10. Evaluación.....	117

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Población investigada según género y edad.....	123
Anexo 2. Formato de registro de halos de inhibición	124
Anexo 3. Registro de lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico	125
Anexo 4. Gráfica de Levey-Jennings del registro de lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico.....	126
Anexo 5. Aceptación o rechazo mediante la utilización de la Multirreglas de Westgard de la lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico.....	126
Anexo 6. Ficha técnica del Equipo turbidimétrico	127
Anexo 7. Fotos de la investigación	129

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS
INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA
BACTERIA *E COLI* EN UROCULTIVOS”**

Autor: Ulloa Gaibor, Freddy David

Tutora: Dra. Paguay Muñoz, Gabriela Jacqueline

Fecha: Abril 2015

RESUMEN

El presente trabajo investigativo se realizó con el fin de esclarecer los problemas que giran en torno al área de microbiología, muchos de gran importancia clínica como es la aparición de resistencias bacterianas, resaltando la importancia de estandarizar los procesos que se realizan en esta área.

Esta investigación se centró especialmente en la preparación del inóculo bacteriano utilizado en el antibiograma, así como el uso de la escala 0,5 de McFarland para realizar la comparación visual de los inóculos o la medición por métodos turbidimétricos, llevando un control de la escala y del inóculo, lo cual si no se realiza correctamente ocasiona varios problemas en el procesamiento del antibiograma, siendo principalmente un crecimiento inadecuado provocando una falsa susceptibilidad antimicrobiana, desembocando en un grave problema a nivel mediato como es una administración inadecuada de antibióticos al paciente, por causa del incorrecto reporte emitido, ocasionando daños en la salud, y favoreciendo a la aparición de resistencias a los antibióticos por parte de los microorganismos.

Las pruebas de susceptibilidad bacteriana y en especial el antibiograma son de gran ayuda en el tratamiento antibiótico de los pacientes que presentan cuadros infecciosos, por lo cual es muy importante realizar este procedimiento correctamente, contribuyendo a la conservación de la salud de la población.

PALABRAS CLAVE: ANTIBIOGRAMA, INÓCULO BACTERIANO, TURBIDEZ, SUSCEPTIBILIDAD, BACTERIAS, ANTIBIÓTICO, E COLI.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CLINICAL LABORATORY CAREER

"ANALYSIS OF METHODS FOR MEASURING THE TURBIDITY OF
INOCULA AND ITS INFLUENCE IN THE ANTIBIOGRAM OF THE *E COLI*
BACTERIA ON URINE CULTURES"

Author: Ulloa Gaibor, Freddy David

Tutor: Dr. Paguay Muñoz, Gabriela Jacqueline

Date: April 2015

SUMMARY

This research work was carried out in order to clarify the problems that revolve around the microbiology area, many of great clinical importance for example the emergence of bacterial resistances, highlighting the importance of standardizing the processes that take place in this area.

This study focused specifically on the preparation of the bacterial inoculum used in the antibiogram and the use of 0.5 McFarland for visual comparison of inocula or turbidimetric measurement methods, keeping track of the scale and inoculum, because if we don't correctly causes several problems in the processing of susceptibility, being mainly inadequate growth causing false antimicrobial susceptibility, leading to a serious problem to mediate level like is inadequate administration of antibiotics to the patient, because is incorrect report issued, damaging health, and It is promoting the development of resistance to antibiotics by microorganisms.

Bacterial susceptibility tests and especially susceptibility testing are very helpful in antibiotic treatment of patients with infectious processes, so it is very important make this procedure correctly, contributing to the preservation of health of the population.

KEYWORDS: ANTIBIOGRAM, BACTERIAL INOCULUM, TURBIDITY, SUSCEPTIBILITY, BACTERIA, ANTIBIOTIC, E COLI.

INTRODUCCIÓN

El antibiograma es la prueba de susceptibilidad a antimicrobianos más ampliamente difundida en el mundo por su accesibilidad y facilidad de aplicación, a pesar de ser una prueba cualitativa el nivel de reproducibilidad con pruebas cuantitativas como es la medición de Concentración Mínima Inhibitoria es muy alta, siendo este un importante protocolo a seguir para poder dar un tratamiento adecuado al paciente que presente algún cuadro infeccioso de origen bacteriano, razón por la cual la CLSI ha estandarizado puntos de corte para la lectura e interpretación correcta del antibiograma dependiendo de microorganismo que se vaya a cultivar, así como el origen de este, seleccionando el antibiótico idóneo para un tratamiento eficaz.

Son varios los aspectos que se deben de tener en cuenta para un correcto aislamiento, identificación y ensayo de susceptibilidad a antimicrobianos, comenzado desde una buena toma y recolección de la muestras, hasta la interpretación y reporte de los resultados.

Uno de los parámetros que se analiza en esta investigación es la preparación del inóculo bacteriano, siendo esta una de las deficiencias más comunes en los laboratorios donde se realiza microbiología, tanto así como la poca importancia que se le da a este aspecto, demostrando que este aspecto aunque por pequeño que parezca influye significativamente en el antibiograma, en este caso en una de las infecciones más comunes la cual es infección de vías urinarias por la bacteria *E. coli*.

Debido a que el área de Microbiología es un pilar fundamental para dar un correcto tratamiento a las infecciones bacterianas presentadas en pacientes que acuden a consultorios médicos, casas de salud u hospitales, es de suma importancia que este sea veraz, confiable y oportuno. Al dar un incorrecto reporte estaríamos causando un daño al paciente al momento que el medico suministra un determinado antibiótico basado en el informe de laboratorio, así como también se

estaría fomentando la aparición resistencias bacterianas, sumando los efectos adversos que ocasiona cualquier elemento externo suministrado a la persona y más aún en este caso innecesariamente, donde el daño es más grande que el beneficio, yendo en contra de la investigación científica.

Es muy importante en esta época que todos los procesos que se realicen en el área de microbiología sean efectuados con sumo cuidado, dándole la seriedad que estos se merecen, más aun sabiendo que cada día se forman nuevos mecanismos de resistencia y ataque de los microorganismos hacia los humanos por lo cual es muy importante realizar de una forma correcta todos los procesos que se realicen cuidando cada uno de los detalles hasta el más mínimo de estos.

VOCABULARIO

Antibiograma: Técnica microbiológica utilizada para evaluar la actividad de un antimicrobiano in vitro frente a un determinado microorganismo bacteriano causante de una infección, la cual predice su eficacia in vivo.

Antibiótico: Sustancia química de origen artificial o natural que tiene la capacidad de eliminar o impedir el crecimiento de determinados microorganismos en una concentración establecida, la cual puede ser utilizada en humanos, animales o plantas.

Bacteria: Organismo unicelular de dimensiones microscópicas que tiene la capacidad de multiplicarse a sí mismo, siendo algunas de estas de gran interés clínico por su capacidad de causar problemas patológicos en nuestro organismo.

Cepas control: Microorganismos aislados e identificados que pertenecen a una misma cepa la cual es reconocida internacionalmente

Escala de McFarland: Son patrones de turbidez utilizados en la preparación de suspensión de microorganismos generalmente destinados para la realización del antibiograma.

Inóculo: Suspensión de microorganismos en un medio determinado

Resistencia bacteriana: capacidad que tienen ciertas bacterias de inhibir o suprimir los efectos antimicrobianos de determinadas sustancias destinadas para su control o erradicación.

ABREVIATURAS

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

ATCC: American Type Culture Collection

KF: Cefalotina

OFX: Ofloxacina

NOR: Norfloxacin

F: Nitrofurantoína

SXT: Trimetoprima/Sulfametoxazol

DO: Densidad Óptica

NTU: Unidades Nefelométricas de turbidez

CAPÍTULO I

EL PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN

ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS PARA MEDIR LA TURBIDEZ DE LOS INÓCULOS Y SU INFLUENCIA EN EL ANTIBIOGRAMA DE LA BACTERIA *E. coli* EN UROCULTIVOS

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN

En el Ecuador los Laboratorios Clínicos de Microbiología se basan en métodos estandarizados a nivel mundial para la interpretación del antibiograma (sensible, intermedia o resistente). El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) es un organismo encargado de determinar y establecer puntos de corte basados en varias propiedades farmacológicas presentadas hacia los microorganismos, las cuales han sido probadas y ensayadas demostrando así su eficacia clínica, estableciendo la susceptibilidad correspondiente de acuerdo al diámetro de inhibición presentado, para de esta forma garantizar la reproducibilidad de los resultados en cualquier laboratorio microbiológico que aplique las normativas recomendadas y que el paciente reciba un tratamiento adecuado y oportuno (Chiriboga & Araujo, 2012).

En la ciudad de Ambato son pocos los Laboratorios de Microbiología que aplican métodos estandarizados para brindar confiabilidad en los resultados, como es utilizar materiales adecuados como son: tubos, cajas de Petri, hisopos, matraces estériles, medios de cultivo adecuados, discos antibióticos apropiados y en buen estado, así como guiarse por las normativas establecidas por el CLSI, para así brindar resultados confiables y de utilidad diagnóstica. Uno de los procedimientos microbiológicos muy importantes tratados dentro de esta investigación es la preparación del inóculo ya que de este depende en gran manera que la susceptibilidad que obtengamos sea la correcta, lastimosamente no se está tomando en consideración este aspecto significativo. Para medir la turbidez el inóculo existen dos métodos principalmente, la comparación visual y el uso de turbidímetro, generalmente los laboratorios se inclinan por la comparación visual del tubo con las colonias suspendidas en solución salina, frente a un patrón McFarland, poniendo de contraste una hoja en blanco con líneas negras debajo de estos para facilitar la observación. Pero se ha podido observar que la gran mayoría de los Laboratorios Microbiológicos no cuentan con un patrón McFarland para realizar la comparación visual, mucho menos con equipo turbidimétrico, utilizando de esta forma una concentración bacteriana desconocida, hasta incluso sin realizar el inóculo, estriando directamente las colonias en el medio de cultivo, alejándose totalmente del proceso estandarizado y correcto para este procedimiento.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente de Ambato, donde se realiza la preparación del inóculo con suspensión directa de colonias, ajustando la turbidez al 0,5 de la escala de McFarland con suero salino estéril, para este se utiliza un equipo turbidimétrico, en el cual se admite como aceptable una absorbancia del inóculo bacteriano de 0,08 a 0,10. Se utiliza el Método de suspensión directa de colonias debido a que es el más adecuado para microorganismos de difícil crecimiento, también por su accesibilidad y rapidez de preparación del mismo. Los resultados emitidos por el laboratorio son de utilidad diagnóstica para proporcionar el tratamiento más

adecuado al paciente. Debido a que el médico se guía en el resultado enviado por el laboratorio, es de vital importancia que este sea correcto, ya que se estaría dando al paciente antibióticos que presentaron una falsamente susceptibilidad en el antibiograma, ocasionándole daño al paciente, y contribuyendo a la aparición de cepas resistente a antibióticos.

A pesar de contar con los equipos necesarios para realizar correctamente este y otros procedimientos microbiológicos, el laboratorio no cuenta con manuales, normativas y guías para realizar de una forma correcta todos los procesos implicados en esta área, generando así la necesidad de implementar una guía en los laboratorios de microbiología que permita seguir los estándares ya establecidos para los procesos que se realizan día a día en el área de microbiología.

1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO

Son varios los problemas que giran en torno al área de microbiología, muchos de gran importancia clínica como es la aparición de resistencias bacterianas, por lo cual es muy importante estandarizar los procesos que se realizan en esta área. En los Laboratorios Clínicos de la ciudad de Ambato se ha podido observar que la mayoría de estos no cuenta con la escala 0,5 de McFarland para realizar la comparación visual de los inóculos y son pocos los que utilizan turbidímetro para llevar un control de la escala y del inóculo.

La incorrecta preparación de este ocasiona varios problemas en el procesamiento del antibiograma, siendo principalmente un crecimiento inadecuado provocando una falsa susceptibilidad antimicrobiana, desembocando en un grave problema a nivel mediato como es una administración inadecuada de antibióticos al paciente, por causa del incorrecto reporte emitido, ocasionando daños en la salud, y favoreciendo a la aparición de resistencias a los antibióticos por parte de los microorganismos.

1.2.3 PROGNOSIS

Las pruebas de susceptibilidad bacteriana y en especial el antibiograma son de gran ayuda en el tratamiento antibiótico de los pacientes que presentan cuadros infecciosos, por lo cual es muy importante que este procedimiento se lo realice correctamente.

Al no realizarse esta investigación, no se podrá evidenciar los problemas que ocasiona el no guiarse por métodos estandarizados, como es la falsa susceptibilidad que se produce al utilizar una concentración bacteriana incorrecta, afectando a un número significativo de paciente, ya que estos seguirán recibiendo un tratamiento inadecuado ocasionándole daños en su salud y por ende también favoreciendo el aumento de resistencias bacterianas al proporcionarle una inadecuada orientación al médico.

Es un problema de suma importancia debido a la implementación de nuevos mecanismos de defensa de los microorganismos hacia los fármacos suministrados, siendo esto un tema de discusión e investigación con el fin de identificar y controlar las patologías causadas por microorganismos de una forma correcta.

Es muy importante investigar y difundir este aspecto importante para la salud concientizando a realizar procedimientos correctos, estandarizados y con calidad en esta y todas las áreas de la salud.

1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los Métodos para Medir la Turbidez de los Inóculos y cómo influyen en el Antibiograma de la Bacteria *E. coli* en Urocultivos?

1.2.5 PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Cómo evaluar que los métodos para medir la turbidez de los inóculos influyen en el antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos?
- ¿Cuáles son los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos?
- ¿Cómo comparar el margen de error de los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos?
- ¿Cómo promulgar la promoción del método que menor error cualitativo presente?

1.2.6 DELIMITACIÓN

Delimitación de contenido

Campo: Laboratorio Clínico

Área: Microbiología

Aspecto: Bacteriología

Objetivos de estudio: Métodos para medir la turbidez de los inóculos y antibiograma.

Delimitación espacial

Esta investigación se realizó en la provincia de Tungurahua, Ciudad de Ambato, Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente Ambato, utilizando cepas de *E. coli* procedente de urocultivos que llegaron al Laboratorio en el periodo establecido.

Delimitación temporal

Este problema fue estudiado en el periodo comprendido entre Octubre 2014 – Febrero 2015.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se realizó con el propósito de contribuir a mejorar un problema que afecta a la población que se acerca a un consultorio y posteriormente a un laboratorio clínico en busca de ayuda, y demostrar que podemos mejorar en nuestro trabajo para dar una mejor calidad de vida al paciente mediante la investigación y experimentación científica.

Hasta la fecha no se ha realizado alguna investigación en este aspecto en nuestra ciudad por lo cual es novedosa y de gran aporte científico, ya que demuestra cómo influye el método que utilizamos para la preparación del inóculo en el antibiograma, siendo este un problema común en los laboratorios clínicos en los cuales se realiza este tipo de procesos.

Es muy importante resolver este problema ya que se está hablando de la salud de las personas y de la forma como nosotros estamos ayudando para que los reportes emitidos sean confiables y de calidad, al seguir trabajando con técnicas obsoletas ponemos en riesgo la integridad del paciente, por lo que es importante demostrar cómo afectan esto en los resultados obtenidos.

El estudio resultó factible ya que se contó con recursos humanos, se brindó la apertura y consentimiento por parte de la directora del laboratorio del Hospital Regional Docente Ambato, así como recursos materiales, económicos, tiempo y el área adecuada para realizar esta investigación.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar cómo los métodos para medir la turbidez de los inóculos influyen en el antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos
- Comparar el margen de error de los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos
- Promulgar la promoción del método que menor error cualitativo presente

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En la ciudad de Ambato los Laboratorios Clínicos Bacteriológicos generalmente utilizan la escala McFarland como medio de comparación visual para la realización del inóculo bacteriano, siendo muy pocos los que utilizan turbidímetro como medio de medición, al regirnos por normas estandarizadas estamos contribuyendo a que los resultados emitidos sean veraces y confiables, entrando dentro de estas normas un aspecto preponderante como lo es el uso de turbidímetro.

La evaluación de todos los microorganismos aislados o una selección indiscriminada de fármacos puede dar lugar a resultados equívocos y a consecuencias potencialmente de riesgo. Por ello, puede ocurrir que un paciente reciba un tratamiento inapropiado basado en antibióticos innecesarios y, además, que no se identifique al verdadero microorganismo patógeno en el amplio abanico de microorganismos aislados y estudiados (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2000).

En el trabajo de investigación titulado: “Determinación de Sensibilidad Antimicrobiana mediante Pruebas Estandarizadas y su influencia en los Protocolos de Diagnostico Microbiológico en pacientes que acuden al laboratorio de la “Clínica de Especialidades Médicas Cotopaxi” en el periodo Diciembre 2008 – Marzo 2009”. , nos indica que mediante este estudio se determinó que las pruebas estandarizadas aumentan la detección de Sensibilidad Antimicrobiana

debido a que la estricta medición de los halos de sensibilidad permite evitar al mínimo el grado de error además es muy beneficioso tanto para el paciente como para el medico pues aumenta la confianza en la terapéutica que recibe. Dentro de las recomendaciones menciona: tener controles de calidad con cepas ATCC, vivificación de las bacterias en BHI, colocar los discos tomando en cuenta los criterios establecidos, utilizar dimensionador de discos y dentro de ellos uno muy importante el uso de escala McFarland (Vásconez Urbano, 2009).

Burgos, F., menciona la importancia de regular las pruebas de susceptibilidad practicadas en microorganismos de fácil crecimiento en medios de cultivo, así como también considera indispensable estandarizar variables como, el inóculo bacteriano, medio, atmosfera, duración de la incubación y criterios interpretativos, para lo cual sin dudas es necesario contar con los equipos y materiales adecuados para esto, como por ejemplo para la preparación del inóculo un turbidímetro (Burgos, 2002).

Al emitir un reporte erróneo, se estaría contribuyendo también al uso incorrecto de los medicamentos. Jiménez, Y., menciona las consecuencias de esto:

La resistencia a los antimicrobianos. Aunque no se le da importancia al hecho de reportar un medicamento sensible, cuando en realidad este era sensible o resistente, este tiene una gran importancia ya que el uso excesivo de antibióticos aumenta la resistencia a los antimicrobianos, así como también optar por medicamentos cada vez más potentes y a la vez agresivos para nuestro organismo, influencia a que cada vez los medicamentos no surgen efecto en las infecciones presentadas teniendo que optar por medicamentos cada vez más perjudiciales. También cita que la resistencia prolonga las enfermedades y las estancias hospitalarias, y puede llegar a causar la muerte; su costo es de US\$ 4–5 mil millones al año en los Estados Unidos de América, y de € 9 mil millones al año en Europa.

Las reacciones adversas a los medicamentos y los errores de medicación. Las reacciones adversas a los medicamentos originadas por su uso erróneo o por reacciones alérgicas pueden ser causa de enfermedad, sufrimiento y muerte. Se calcula que las reacciones adversas a los medicamentos cuestan millones de dólares al año. El desperdicio de recursos. Un 10 a 40% de los presupuestos sanitarios nacionales se gasta en medicamentos. La compra de medicamentos directamente por el usuario puede causar graves dificultades económicas a los pacientes y a sus familias.

Si los medicamentos no se prescriben y usan adecuadamente, se desperdician miles de millones de dólares de fondos públicos y personales, cabe mencionar también los recursos que se gastan innecesariamente al no realizar un correcto procedimiento teniendo que repetir debido a la inadecuada capacitación del personal. La pérdida de confianza del paciente. El uso excesivo de medicamentos escasos contribuye a menudo al agotamiento de existencias y al aumento de los precios hasta niveles inasequibles, lo cual merma la confianza del paciente. Los malos resultados sanitarios debidos al uso inadecuado de los medicamentos también pueden reducir la confianza (Jiménez, 2012).

Cercenado y Saavedra en su investigación mencionan la importancia de la estandarización de los procedimientos microbiológicos, como lo es el ensayo de la sensibilidad de antibióticos en el antibiograma. Un requisito esencial para poder realizar una adecuada lectura interpretada es conocer la identidad del microorganismo estudiado, tanto el género como la especie, ya que sin ella el resultado puede llevar a errores en la utilización de los antimicrobianos. Así, una cepa de *S. aureus* con CMI de cloxacilina de 1 mg/l es sensible a cloxacilina y a todos los β -lactámicos, mientras que si se trata de un estafilococo coagulasa negativa la CMI de 1 mg/l indica resistencia a Cloxacilina (Cercenado & Saavedra, 2009).

Santana, L., menciona la importancia de que la prescripción no adecuada y abusiva de los antibióticos, la prolongación de los planes más allá de lo necesario,

la aplicación de dosis no óptimas, la irregularidad en la toma de las drogas, son los principales factores que han llevado a que hoy la tasa de resistencia antimicrobiana sea tan elevada, por ende si el reporte emitido no es el correcto estaríamos contribuyendo a este grave problema sanitario (Santana, 2009).

Gallegos, F., menciona varios aspectos que afecta la susceptibilidad del antibiograma como es, la carga del antibiótico en los discos, la difusión del antibiótico en el medio de cultivo, el tamaño del inóculo bacteriano, la composición y grosor del medio de cultivo, la velocidad del crecimiento bacteriano y el tiempo de incubación, por lo que es muy importante seguir los procedimientos correctos para este tipo de pruebas de gran importancia en el diagnóstico y tratamiento médico (Gallegos, 2014).

La bacteria *E. coli* es la causa más frecuente de Infecciones de vías urinarias, encontrándose en un 80% en pacientes ambulatorios y un 40% en pacientes hospitalizados por lo cual es de vital importancia la experimentación e investigación en este aspecto que permita realizar una correcta determinación investigación y ensayo de este microorganismo (Mims, Wakelin, Playfair, Williams, & Roitt, 1999).

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

La investigación está enfocada en el paradigma crítico – propositivo cuya finalidad es la comprensión de las variables e identificación de las potencialidades de cambio que se pueden establecer para de esta forma brindar una mejor atención al paciente fomentando su integridad en cuanto a salud se refiere. Basada en realidad que se vive en los laboratorios clínicos, los cuales tienen relación estrecha con el paciente y médico, fomentando una interacción transformadora desarrollándose en un análisis basado en valores éticos y profesionales, adecuado al método y objetivo de estudio con énfasis en el análisis cualitativo a través de un diseño de investigación participativo, abierto y flexible.

2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL

LEY ORGÁNICA DE SALUD

TITULO PRELIMINAR

CAPÍTULO I

Del derecho a la salud y su protección

Art. 1.- La presente Ley tiene como finalidad regular las acciones que permitan efectivizar el derecho universal a la salud consagrado en la Constitución Política de la República y la ley. Se rige por los principios de equidad, integralidad, solidaridad, universalidad, irrenunciabilidad, indivisibilidad, participación, pluralidad, calidad y eficiencia; con enfoque de derechos, intercultural, de género, generacional y bioético.

CAPÍTULO III

Derechos y deberes de las personas y del Estado en relación con la salud

Art. 7.- Toda persona, sin discriminación por motivo alguno, tiene en relación a la salud, los siguientes derechos:

a) Acceso universal, equitativo, permanente, oportuno y de calidad a todas las acciones y servicios de salud;

LIBRO V

TITULO ÚNICO

Investigación científica en salud, genética y sistema de información en salud

CAPÍTULO I

De la investigación científica en salud

Art. 207.- La investigación científica en salud así como el uso y desarrollo de la biotecnología, se realizará orientada a las prioridades y necesidades nacionales,

con sujeción a principios bioéticos, con enfoques pluricultural, de derechos y de género, incorporando las medicinas tradicionales y alternativas.

Art. 208.- La investigación científica tecnológica en salud será regulada y controlada por la autoridad sanitaria nacional, en coordinación con los organismos competentes, con sujeción a principios bioéticos y de derechos, previo consentimiento informado y por escrito, respetando la confidencialidad.

CAPÍTULO III

Del sistema común de información

Art. 215.- La autoridad sanitaria nacional con la participación de los integrantes del Sistema Nacional de Salud, implementará el sistema común de información con el fin de conocer la situación de salud, identificar los riesgos para las personas y el ambiente, dimensionar los recursos disponibles y la producción de los servicios, para orientar las decisiones políticas y gerenciales y articular la participación ciudadana en todos los niveles, entre otras.

Este sistema incorporará los enfoques pluricultural, multiétnico, de género, las particularidades regionales y poblacionales, así como la división político - administrativa del país (Vertic, 2006).

Lo expuesto anteriormente garantiza que el presente estudio cumplió con los marcos legales que apoyan el desarrollo de investigación científica, se trabajó con cepas bacterianas de *E. coli* obtenidas de agares diferenciales adquiridos del laboratorio del Hospital Regional Docente Ambato, de procedencia urinaria, quedando totalmente como desconocido los pacientes de los cuales procedieron las muestras, guardando de esta forma la confidencialidad e integridad del paciente al no haber tenido contacto alguno con el mismo.

2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

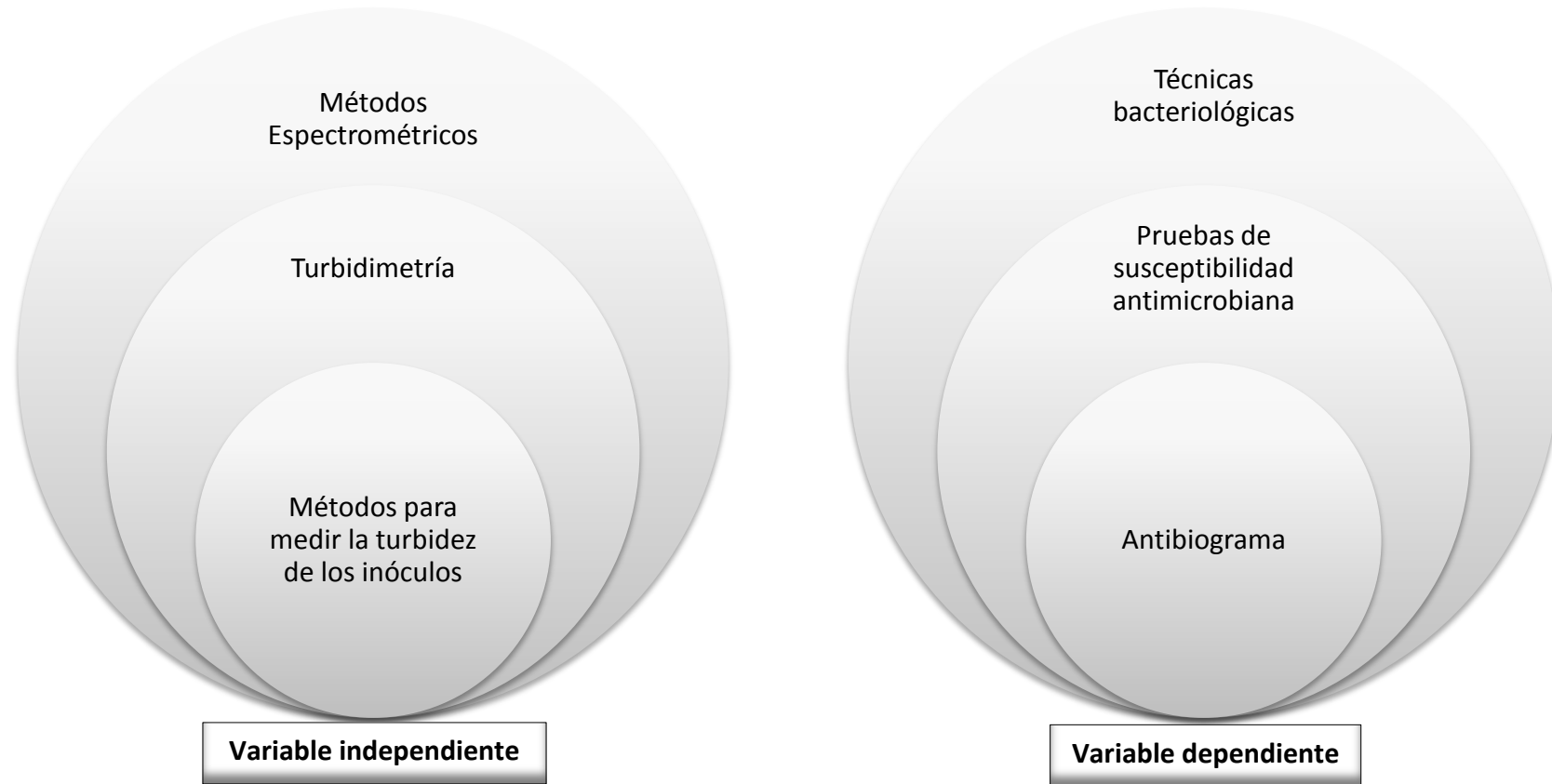


Gráfico 1. Categorías fundamentales.

Elaborado por: El investigador.

2.4.1 Métodos Espectrométricos

La espectrometría es la técnica espectroscópica para tasar la concentración o la cantidad de especies determinadas. En estos casos, el instrumento que realiza tales medidas es un espectrómetro espectrógrafo. La espectrometría a menudo se usa en física y química analítica para la identificación de sustancias mediante el espectro emitido o absorbido por las mismas. La espectrometría también se usa mucho en astronomía y detección remota. (Pérez, 2007).

Naturaleza de la excitación media

El tipo de espectrometría depende de la cantidad física medida. Normalmente, la cantidad que se mide es una intensidad de energía absorbida o producida. Se pueden distinguir estos tipos de espectrometría según la naturaleza de la excitación.

Electromagnética. Interacciones de la materia con radiación electromagnética como la luz.

De electrones. Interacciones con haces de electrones. La espectroscopia Auger implica inducir el efecto Auger con un haz de electrones. En este caso la medida implica la energía cinética del electrón como variable.

De masa. Interacción de especies cargadas con campos magnéticos y/o eléctricos, dando lugar a un espectro de masas. El término "espectroscopia de masas" está anticuado, ya que la técnica es principalmente una forma de medida, aunque produzca realmente un espectro para la observación. Este espectro tiene la masa (m) como variable, pero la medida es esencialmente de la energía cinética de la partícula.

Acústica. Frecuencia de sonido.

Dieléctrica. Frecuencia de un campo eléctrico externo.

Mecánica. Frecuencia de un estrés mecánico externo, por ejemplo una torsión aplicada a un trozo de material (Pérez, 2007).

Según el proceso de medida

La mayoría de los métodos espectroscópicos se diferencian en atómicos o moleculares según si se aplican a átomos o moléculas. Junto con esta diferencia, se pueden distinguir los siguientes tipos de espectrometría según la naturaleza de su interacción:

De absorción. Usa el rango de los espectros electromagnéticos en los cuales una sustancia absorbe. Incluye la espectrometría de absorción atómica y varias técnicas moleculares, como la espectrometría infrarroja y la resonancia magnética nuclear (RMN).

De emisión. Usa el rango de espectros electromagnéticos en los cuales una sustancia irradia (emite). La sustancia primero debe absorber la energía. Esta energía puede ser de una variedad de fuentes, que determina el nombre de la emisión subsiguiente, como la luminiscencia. Las técnicas de luminiscencia moleculares incluyen la espectrofluorimetría.

De dispersión. Mide la cantidad de luz que una sustancia dispersa en ciertas longitudes de onda, ángulos de incidencia y ángulos de polarización. El proceso de dispersión es mucho más rápido que el proceso de absorción/emisión. Una de las aplicaciones más útiles es la espectroscopia Raman (Pérez, 2007).

Tabla 1. Métodos Espectrométricos.

Espectroscopia atómica		
Técnica	Excitación	Relajación
Espectroscopia de absorción atómica	UV-vis	Calor
Espectroscopia de emisión atómica	Calor	UV-vis
Espectroscopia de fluorescencia atómica	UV-vis	UV-vis
Espectroscopia de rayos X	Rayos X	Rayos X
Espectroscopia molecular		
Técnica	Radiación electromagnética	
Espectroscopia infrarroja	Infrarrojo	
Espectroscopia ultravioleta-visible	Ultravioleta-visible	
Espectroscopia de fluorescencia ultravioleta-visible	Ultravioleta-visible	
Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	Radiofrecuencias	
Técnicas no espectroscópicas		
Técnica	Propiedad	
Polarimetría	Polarización de la luz	
Dispersión óptica rotatoria	Polarización de la luz	
Refractometría	Índice de refracción	
Interferometría	Índice de refracción	
Turbidimetría	Dispersión de la luz	
Nefelometría	Dispersión de la luz	
Espectroscopia Raman	Dispersión	
Otras técnicas espectrométricas		
Espectrometría de masas		
Difracción de rayos X		
Elipsometría		

Fuente: (Pérez, 2007).

La dispersión (o difusión) de la luz es el fenómeno mediante el cual la radiación electromagnética, al chocar con pequeñas partículas de tipo coloidal o incluso molecular, es desviada en su dirección de propagación, de forma aparentemente caótica, en cada uno de los núcleos de dispersión, por tener un índice de refracción diferente al del medio. La medida de la luz dispersada (o difusa) da lugar a técnicas muy útiles en la determinación de la concentración de sustancias en suspensión, así como en la caracterización de la forma y del tamaño de las partículas coloidales y macromoleculares. Estas técnicas son de dos tipos: Turbidimetría y Nefelometría (Gredos, 2009).

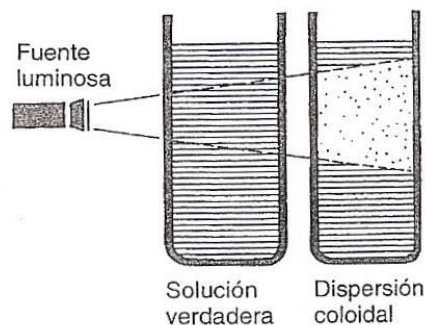
La aparición de turbidez en un medio en el que tiene lugar cierta reacción química, es un hecho que ha sido explotado, como medio de identificación de determinadas sustancias, desde hace mucho tiempo. Se sabía, por ejemplo, que la acidificación de una disolución de proteínas provoca su precipitación (floculación, coagulación), y por lo tanto, genera turbidez. La medida de esta turbidez se utiliza en la actualidad para la determinación cuantitativa de proteínas en líquidos biológicos. Los métodos turbidimétricos y nefelométricos, con los que, de forma diferente pero análoga, se mide la turbidez de un medio, se utilizan indistintamente en medidas de concentración. Cuando el objetivo es la determinación de la forma y tamaño de las partículas en suspensión, los métodos nefelométricos son indudablemente mucho más ventajoso (Gredos, 2009).

Cualquier medio sólido, líquido o gaseoso es capaz de dispersar luz en mayor o menor grado. Este fenómeno se conoce como efecto Tyndall, quien lo describió por primera vez en 1854. Sin embargo fue Rayleigh en 1871 quien propuso el primer modelo físico que interpreta de forma notable el fenómeno de dispersión en sistemas diluidos, y que constituye la base fundamental de los métodos turbidimétricos y nefelométricos.

Las soluciones verdaderas son claras y transparentes y no es posible distinguir ni macroscópicamente ni microscópicamente sus partículas disueltas de la fase dispersante. En cambio, las dispersiones groseras presentan un aspecto turbio que se debe a la

facilidad con que se visualizan las partículas suspendidas en el medio líquido. En cuanto a las dispersiones coloidales, si bien aparecen perfectamente claras en el microscopio, al ser examinadas de una manera especial se comportan de forma muy singular. En efecto, cuando un rayo luminoso atraviesa un recipiente transparente que contiene una solución verdadera, es imposible visualizarlo a través de ella, por lo que se dice que es una solución ópticamente vacía, esto es, en el ultramicroscopio presentan un fondo negro sin puntos brillantes pero, si dicho rayo penetra en una habitación oscurecida, su trayectoria estará demarcada por una sucesión de partículas que, al reflejar y refractar las radiaciones luminosas, se convierten en centros emisores de luz. Con las soluciones coloidales pasa exactamente lo mismo; sus micelas gozan de la propiedad de reflejar y refractar la luz, con el agregado de que la luz dispersada está polarizada. De este modo, el trayecto que sigue el rayo luminoso en una solución Coloidal es visualizado gracias a las partículas coloidales, convertidas en centros emisores de luz (Hernandez, Muñoz, Romo, Chable, & Guillen, 2005).

Gráfico 2. Difusión de la luz en solución verdadera y dispersión coloidal.



Fuente: (Fuentes, 2014).

Esto fenómeno se conoce con el nombre de Efecto Tyndall y es tanto más intenso cuanto menor sea la longitud de onda del rayo incidente; de ahí que del conjunto de los colores que constituyen el espectro solar, el azul y el violeta son los preferentemente difractados, lo que explica el color azul que tienen la atmósfera y

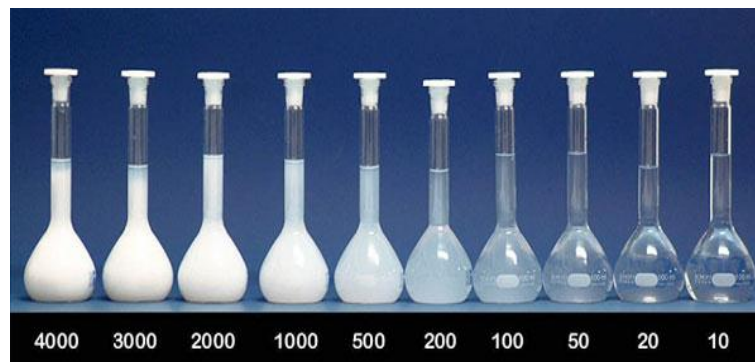
el mar. Asimismo, es tanto más pronunciado cuanto mayor sea el tamaño de las partículas coloidales (Hernandez, Muñoz, Romo, Chable, & Guillen, 2005).

2.4.2 Turbidimetría

La turbidez a la reducción de la transparencia de un líquido causada por la presencia de materia sin disolver. La turbidez, también es nombrada turbiedad

La técnica analítica utilizada para su medición es la turbidimetría, basada en la dispersión de la luz por partículas en suspensión en el seno de una disolución, la cual mide la disminución de la transmitancia del haz de luz al atravesar la muestra. Se diferencia de la nefelometría porque esta técnica analítica es basada en la dispersión de la luz por partículas en suspensión en el seno de una disolución, midiendo el haz de luz en la dirección que forma un ángulo recto (90°) (Soriano, 2010).

Gráfico 3. Estándares de turbidez de formazin expresados en NTU.



Fuente: (Optek, 2005).

Cuando la radiación electromagnética atraviesa una solución, esta puede ser absorbida o dispersada; depende de las propiedades de la solución. Cuando la radiación es dispersada se usan la turbidimetría, que se basa en la medición de la intensidad de la luz transmitida como una función de la concentración de la fase dispersa; esta técnica se usa para determinar la cantidad de material sólido en una suspensión coloidal (Chen & De Abreu, 2014).

Las *Técnicas Espectroscópicas* y *No Espectroscópicas* son empleadas en los *Métodos Espectrométricos* los cuales son métodos instrumentales empleados en química analítica basados en la interacción de la radiación electromagnética, u otras partículas, con un analito para identificarlo o determinar su concentración. Las *Técnicas no Espectroscópicas* aprovechan diferentes propiedades de la radiación electromagnética, como el índice de refracción o la dispersión (Caballero, 2013).

2.4.3 Métodos para medir la turbidez de los inóculos

Para medir la turbidez se utiliza actualmente instrumentos como son los turbidímetros o nefelómetros, que emplean un método cuantitativo y deben cumplir los siguientes criterios en el diseño óptico:

Tabla 2. Criterios en el diseño óptico para un turbidímetro o nefelómetro.

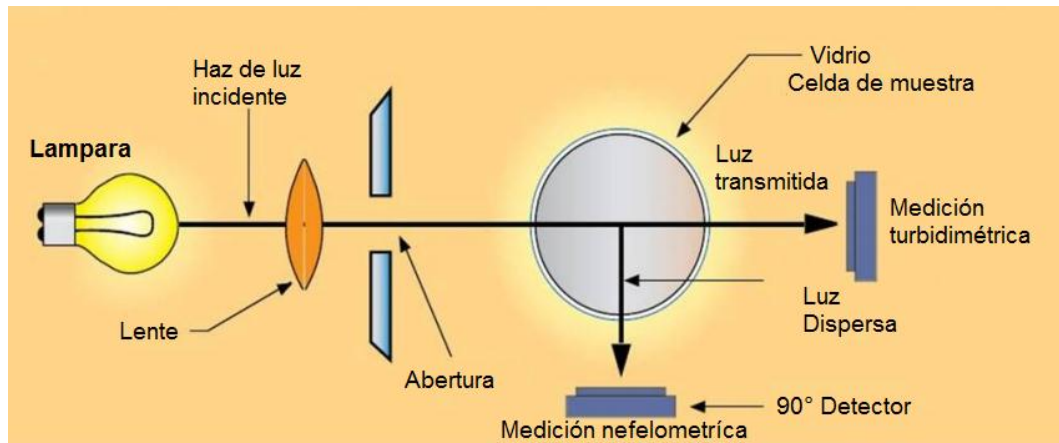
Criterios	Requerimientos
Longitud de onda	○ 860 nm
Fuente de luz	○ Lámpara de tungsteno; diodos (leds) o laser
Ancho de banda espectral	○ $\leq 60\text{nm}$
Convergencia de la radiación incidente	○ $\pm 1,5^\circ$
Ángulo de medición	○ $90^\circ \pm 2,5^\circ$
Distancia recorrida por la luz incidente y dispersa	○ $\leq 10\text{ cm}$

Fuente: (Soriano, 2010).

Los turbidímetros o nefelómetros deben estar diseñados con niveles muy pequeños de luz extraviada, con el objeto de no tener una deriva significativa en el periodo de estabilización del instrumento, y también para que no interfieran en mediciones de turbidez de baja concentración. La nefelometría se basa en la

medición de radiación dispersa, en cambio la turbidimetría en la medición de la intensidad de un haz disminuido. (Soriano, 2010).

Gráfico 4. Diseño óptico de un turbidímetro y nefelómetro.



Fuente: (Soriano, 2010).

En microbiología uno de los parámetros preponderantes en el antibiograma es la medición de la turbidez del inóculo bacteriano. Para medir la turbidez primero debemos partir de la preparación del inóculo, existen principalmente dos formas:

Preparación del inóculo en medio de cultivo líquido

Para esto se procede a coger de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y sembrarlas en 5 ml de un medio líquido (Brain-Heart, Todd Hewitt, Trypticase soja, etc.) e incubar en la estufa a 35°C durante 2 a 6 horas hasta conseguir o superar una turbidez del 0.5 de la escala de McFarland. Si la turbidez es superior se realiza el ajuste necesario con suero salino estéril.

Preparación de inóculo con suspensión directa de colonias

A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas coger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland en suero fisiológico. Agitar en un vórtex durante 15-20 segundos. Se recomienda utilizar el primer método si el cultivo tiene más de 24 horas de incubación.

El segundo método es el más adecuado para microorganismos de crecimiento difícil en medios líquidos (*Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, estreptococos no enterococos, *Listeria*, *Moraxella* y *Corynebacterium* spp) y para estafilococos en los que se quiera detectar la resistencia a oxacilina (Quiroz, 2013).

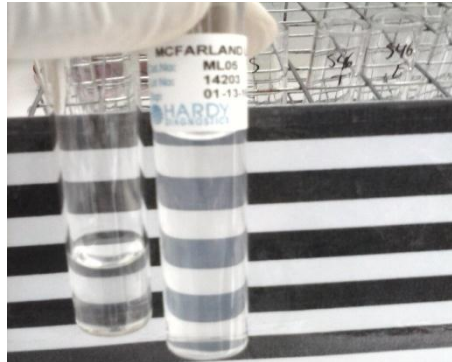
En ambos métodos de preparación del inóculo se suele utilizar la comparación visual y la medición en un turbidímetro, como métodos para medir la turbidez.

Medición de la turbidez con comparación visual

Para este método vamos a coger el tubo de origen comercial o preparado de escala McFarland equivalente a 0,5 es decir con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, vamos a proceder a agitar el tubo en un vórtex, con luz adecuada se compara la turbidez con el inóculo o suspensión bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, se recomienda sostener los tubos contra un fondo blanco con líneas negras horizontales de contraste, se ajustará la turbidez del inóculo con suero fisiológico en caso de que este sobrepase la escala.

La escala de McFarland debe mantenerse bien cerrada y sellada para prevenir la evaporación y se almacena en la oscuridad, la turbidez estándar puede permanecer almacenada hasta 6 meses. La turbidez estándar de 0,5 en la escala de McFarland se usa para justar la turbidez del inóculo para la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos (Perilla, y otros, 2003).

Gráfico 5. Medición de la turbidez mediante la observación visual frente a Escala 0,5 McFarland con fondo blanco y líneas negras horizontales de contraste.



Fuente: El investigador.

Medición de la turbidez con turbidímetro

En este método se va a medir la turbidez del inóculo o suspensión bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, por medio de un equipo turbidimétrico. Debido a las implicaciones que conlleva una inadecuada preparación del inóculo como es la falsa susceptibilidad y fomento de resistencias bacterianas es importante la correcta preparación de este (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger, & Win, 1999).

Para este se debe primero encerrar el equipo con agua destilada, posteriormente leemos la turbidez de un patrón con escala conocida de origen comercial, con fines de control de calidad y posteriormente se procede a leer las suspensiones bacterianas realizadas ajustando la turbidez hasta tener el valor esperado.

Gráfico 6. Turbidímetro.



Fuente: El investigador.

2.4.4 Técnicas bacteriológicas

Las técnicas bacteriológicas generalmente utilizadas para el diagnóstico etiológico de la infecciones depende en gran medida de las características biológicas de los microorganismos que se pretende detectar.

Se utilizan desde técnicas básicas de visualización como lo es en el microscopio a partir de muestras en fresco y coloraciones, las cuales son la primera orientación hacia un diagnostico confiable (Prats, 2006).

Las técnicas de aislamiento en medios de cultivo enriquecidos pudiendo ser estos específicos o generales, así como también la identificación como lo es por pruebas bioquímicas, son pruebas indispensables en esta área. Existen microorganismos de difícil identificación como lo son treponemas, clamidias y rickettsias, para los cuales su diagnóstico depende de pruebas serológicas o inmunológicas. (Prats, 2013).

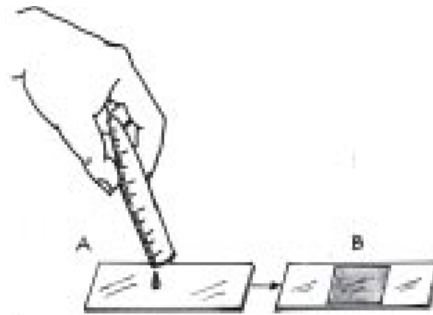
Técnicas de examen microscópico

El examen microscópico es el primer paso para el estudio de muestras bacteriológicas, orientándonos con datos de gran utilidad como son: la presencia de bacterias, su morfología, movilidad y características tintoriales. Existen dos técnicas generales para el examen microscópico: preparaciones en fresco y preparaciones coloreadas (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Examen microscópico en fresco

Es una técnica de fácil realización, en la que el producto a examinar se sitúa entre porta y cubreobjetos, pudiendo observarse la presencia de bacterias, morfología y motilidad, permitiendo la observación bacteriana, entidades celulares, leucocitos, cristales, moco, etc. (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 7. Preparación en fresco de una muestra



Fuente: (Bvscuba, 2009).

Examen microscópico de extensiones coloreadas

Las técnicas de coloración son un complemento indispensable del examen en fresco, ya que permiten la observación de las estructuras celulares y la diferenciación de microorganismos de acuerdo a la coloración que estos tomen.

Preparación de los frotis

Extensión.- La forma de realizar la extensión depende del producto a examinar:

Producto líquido: Depositar una gota de la muestra en el portaobjetos, extenderlo con el asa hasta conseguir una capa fina y homogénea.

Cultivo en medio sólido: Depositar una gotita de agua o solución fisiológica en un portaobjetos y suspender en ella una colonia. Extender bien para conseguir una capa fina y homogénea.

Exudado: Extender directamente sobre el portaobjetos la muestra recogida con el hisopo, procurando que quede una capa fina y homogénea. Con el fin de conservar la morfología celular y la agrupación bacteriana, es conveniente dar un movimiento de rotación con el hisopo, conforme se vaya deslizando sobre el portaobjetos.

Secado y fijado.- Las dos acciones se pueden efectuar simultáneamente. Calentar ligeramente la parte inferior del portaobjetos. Esta operación, además de secar. Sirve para fijar, ya que coagula las proteínas plasmáticas de los microorganismos y los adhiere al portaobjetos.

También se puede fijar con alcohol, para ello cubrir la preparación con alcohol metílico, dejar dos o tres minutos, escurrir y secar a temperatura ambiente. Esta segunda opción es útil si el extendido es rico en materiales hiticos (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Coloraciones

Coloraciones simples

Las coloraciones simples son aquellas que utilizan un solo colorante y tienen por objetivo poner en evidencia la morfología bacteriana. A continuación se describen dos de las principales.

Tinción de Azul de Metileno

Reactivos:

Azul de metileno: 0,3 g.

Alcohol etílico de 95°: 30 ml.

Una vez disuelto, agregar 10 ml de agua destilada

Técnica:

Extender, fijar y secar al calor.

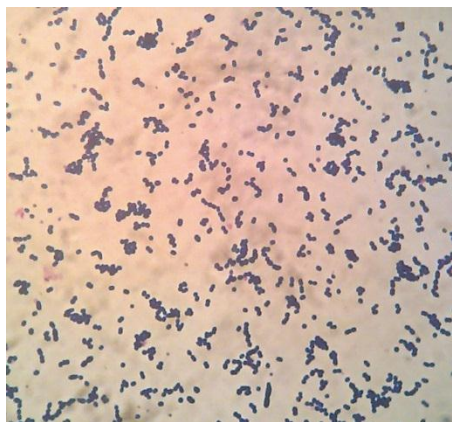
Cubrir la preparación con el colorante y dejar actuar uno a dos minutos.

Lavar con agua.

Secar a temperatura ambiente y observar con objetivo de inmersión.

Las bacterias se observan de color azul (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 8. Observación de placa teñida con azul de metileno



Fuente: El investigador.

Tinción de Fucsina Fenicada Básica

Reactivos:

Fucsina básica: 10 g.

Alcohol de 95°: 100 ml.

Añadir a una parte de esta solución alcohólica de reserva nueve partes de agua fenicada al 5%.

Técnica:

Extender, secar y fijar al calor.

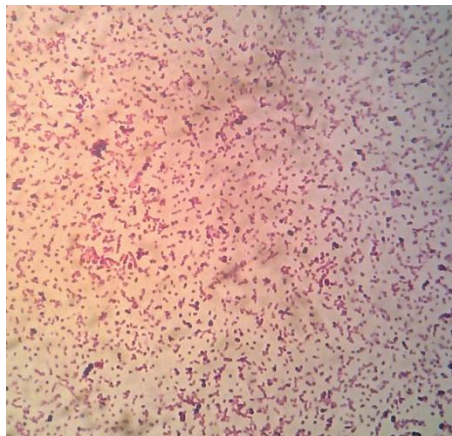
Cubrir la preparación con el colorante y dejar actuar uno a dos minutos.

Lavar con agua.

Secar a temperatura ambiente y observar con objetivo de inmersión.

Las bacterias se observa de color rojo (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 9. Bacterias con tinción de fucsina fenicada básica



Fuente: El investigador.

Coloraciones compuestas o diferenciales

Las coloraciones compuestas son aquellas que utilizan más de un colorante. Su objetivo es poner de manifiesto diferencias entre microorganismos o parte de ellos. Algunas de las principales son las siguientes:

Tinción de Gram

El examen directo de un espécimen clínico bajo tinción de Gram representa uno de los métodos con mayor valor y utilidad en el área de Microbiología. Los resultados de esta proporcionan rápidamente información valiosa que puede ser utilizada por el clínico para elegir la terapia antimicrobiana apropiada, así como también permite al laboratorista valorar la calidad de la muestra y la profundidad con la que debe abordarse la caracterización de algunos microorganismos aislados en cultivo (Davey, y otros, 2007).

Es la coloración diferencial más utilizadas en Microbiología, ya que diferencia a las bacterias en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas, según retengan o no el cristal violeta utilizado.

Reactivos:

Violeta de genciana fenicada:

Violeta de genciana: 1g.

Ácido fénico: 25g.

Alcohol absoluto: 10ml.

Agua destilada: 100ml.

Solución de Lugol (mordiente):

Yodo: 1g

Yoduro: potásico: 2g.

Agua destilada: 300ml.

Decolorante:

Alcohol de 96°: 70ml.

Acetona: 30ml.

Fucsina diluida:

Fucsina de Ziehl: 10ml.

Agua destilada: 90ml.

Si se utiliza como colorante de contraste safranina:

Safranina (2,5g/100ml. alcohol 95°): 10ml.

Agua destilada: 90ml.

Técnica:

Extender, secar y fijar al calor.

Cubrir la preparación con violeta de genciana y dejar actuar un minuto.

Lavar con agua.

Cubrir la preparación con Lugol, y dejar actuar un minuto.

Lavar con agua.

Decolorar con alcohol-acetona hasta que se arrastre todo el colorante.

Lavar con agua.

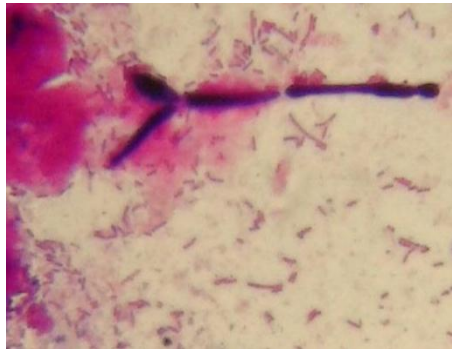
Cubrir la preparación con Fucsina diluida, y deja actuar de treinta a cuarenta y cinco segundos exactos. Si se utiliza safranina, dejar actuar un minuto.

Lavar con agua.

Secar a temperatura ambiente y observar con objetivo de inmersión.

Las bacterias Gram positivas se observan de color violeta y las Gram negativas de color rosa, siendo de tonalidad más tenue si se ha utilizado la safranina como colorante de contraste (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 10. Observación de hifas de hongo con tinción de Gram



Fuente: El investigador

Tinción de Giemsa

Es una coloración empleada para la visualización de protozoos, espiroquetas y *Chlamydia*.

Reactivos:

Metanol.

Colorante de Giemsa.

Agua tamponada pH 7,2.

Técnica:

Extender y secar a temperatura ambiente.

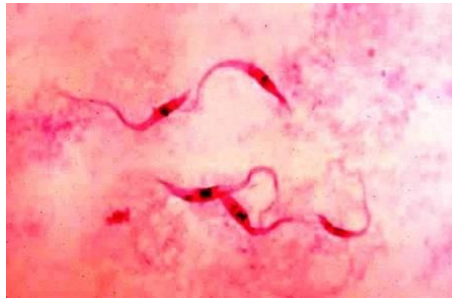
Fijar con metanol diez minutos.

Cubrir la preparación con Giemsa diluido 1/10 con agua tamponada pH 7,2 y dejar actuar de diez a quince minutos.

Lavar con agua.

Secar y observar con objeto de inmersión (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 11. Parásitos observados con tinción de Giemsa



Fuente: (Hernández, 2010).

Tinción de Ziehl-Neelsen

Es una coloración acidorresistente que utiliza colorantes básicos aplicados con calor. Se utiliza para la observación de microorganismos que resisten la decoloración con ácidos inorgánicos, como son *Mycobacterium*, *Actinomyces* y *Nocardia*.

Reactivos:

Colorante.

Fucsina básica: 0,3 g.

Fenol: 5 g.

Alcohol etílico de 95°: 10ml.

Agua destilada: 95ml.

Filtrar y guardar en frasco oscuro.

Decolorante.

Alcohol de 95°: 97ml.

Ácido clorhídrico: 3ml.

Solución de contraste:

Azul de metileno: 0,3g.

Agua destilada: 100ml.

Técnica:

Extender y secar la preparación a temperatura ambiente.

Fijar con alcohol metílico de 99° hasta evaporación del mismo.

Cubrir la preparación con la solución de fucsina y flamear el porta hasta emisión de vapores. Mantener caliente la preparación durante diez a quince minutos.

Evitar la ebullición.

Lavar con agua.

Decolorar con la mezcla alcohol ácida hasta que no desprenda más colorante.

Lavar con agua.

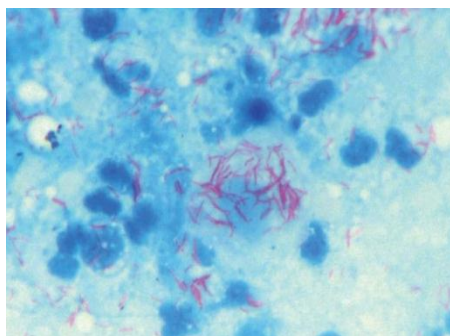
Cubrir la preparación con azul de metileno de dos a tres minutos.

Lavar con agua.

Secar a temperatura ambiente y observar con objetivo de inmersión.

Los microorganismos ácido-alcohol resistentes se observan de color rosa, los que no lo son y demás productos o células se observan de color azul (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 12. Tinción de Giemsa. Bacilos ácido alcohol resistentes.



Fuente: (Prasad, Narasimha, & Harendra Kumar, 2011).

Cultivo bacteriano

Para estudiar las reacciones metabólicas y fisiológicas de las bacterias es necesario cultivarlas en medios de cultivo, que son mezclas de sustancias que

proporcionan en forma asimilable todos los elementos necesarios para su crecimiento y multiplicación.

Según el fin al que estén destinados, los medios de cultivo se clasifican en medios selectivos, de enriquecimiento, medios de diferenciación, medios de identificación, medios de multiplicación, medios de conservación.

En la actualidad existen una gran variedad de medios de cultivo deshidratados que facilitan en gran manera la labor de los laboratorios de Microbiología y que garantizan una buena calidad de funcionamiento, a continuación se nombran los medios principalmente usados.

Caldo Cerebro Corazón (BHI)

El caldo cerebro corazón es un medio líquido, especialmente adaptado para el crecimiento de microorganismos exigentes, es un excelente caldo para hemocultivos.

Agar Cled (Cistina-Lactosa-Electrólito Deficiente)

El agar Cled es un medio no inhibidor, indicado para el cultivo y recuento en placa de bacterias procedentes de orina. Por ser deficiente en electrolitos inhibe el crecimiento en velo de *Proteus*. El medio incluye lactosa y un indicador. Los microorganismos que fermentan el azúcar producen un cambio de color, de verde a amarillo. Los no fermentadores dan colonias azul-verdosas.

Agar Chocolate

Es un medio utilizado para el crecimiento de microorganismos exigentes. Se prepara a partir de un agar sangre recién preparado y sin solidificar (50°C) que se incluye durante diez minutos en un baño María previamente estabilizado a 80°C. Si el tiempo y la incubación son los correctos no se destruyen los factores

hemáticos V y X, que quedan libres en el medio y que pueden ser recuperados por gérmenes exigentes y con dicha auxotrofía, como *Haemophilus influenzae*.

Agar Emb (Agar con Eosina y Azul de Metileno)

El agar con eosina y azul de metileno es un medio de diferenciación, desarrollado por Levine, que se utiliza para el cultivo *Enterobacteriaceae*. La inclusión de lactosa en el medio permite diferenciar a los microorganismos que fermentan el azúcar de los que no lo hacen. Los colorantes contenidos en el medio inhiben la mayor parte de la flora Gram positiva (excepto *Streptococcus faecalis*). En este medio, las colonias de *Escherichia coli* adquieren un aspecto característico a la luz reflejada, ya que dan un brillo metálico verdoso.

Agar MacConkey

El agar MacConkey es un medio selectivo diferencial utilizado para el cultivo de *Enterobacteriaceae*. Los organismos fermentadores de la lactosa producen colonias rosas o rojas que pueden estar rodeadas de una zona de bilis precipitada.

Los organismos no fermentadores de la lactosa, forman colonias incoloras y transparentes, la flora Gram positiva es inhibida por el cristal violeta. Es clave diferencial para *E. coli* como bacilo Gram negativo fermentador de lactosa (Brooks, Morse, Carroll, Mietzner, & Butel, 2010).

Agar Mueller Hinton

El agar Mueller Hinton es un medio enriquecido, utilizado como medio de elección para realizar pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos.

Agar Sabouraud Cloranfenicol

Es un medio utilizado para el cultivo de levaduras y hongos, al que se ha adicionado cloranfenicol para impedir el desarrollo de la flora acompañante.

Agar Salmonella-Shigella (Agar SS)

El agar SS es un medio diferencial selectivo utilizado para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*. El desarrollo de otros bacilos Gram negativos y de cocos Gram positivos está inhibido por el verde brillante, las sales biliares y las elevadas concentraciones de tiosulfato y citrato.

Agar Sangre

El agar sangre es un medio enriquecido utilizado para el cultivo de microorganismos exigentes, además para la determinación de reacciones hemolíticas típicas.

Agar Thayer Martin

El medio de Thayer Martin permite el crecimiento de cepas exigentes de *Neisseria* (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

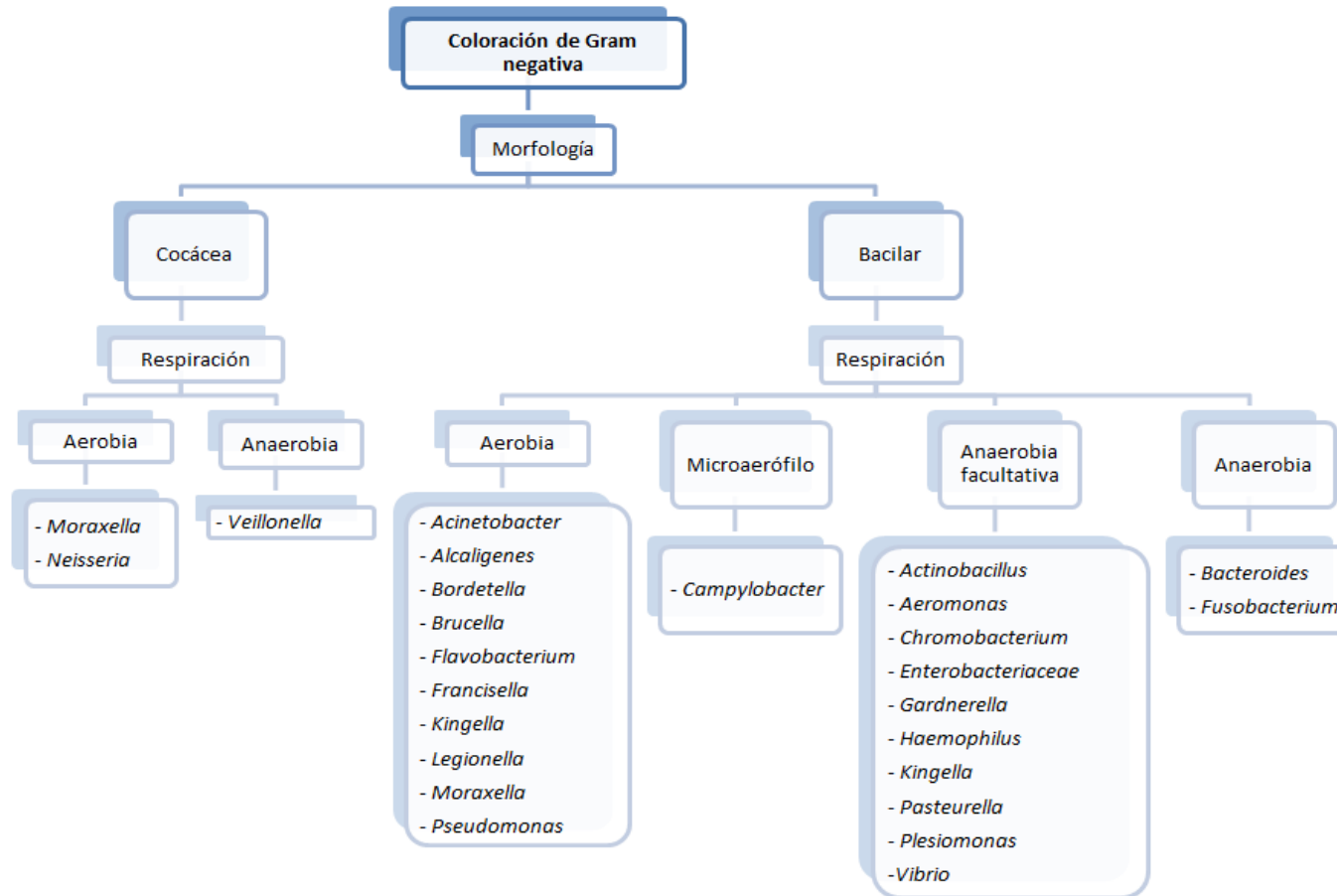
Diferenciación de bacterias de interés clínico

En el siglo XVIII, Lineo aplicó un tipo de clasificación de acuerdo a las características morfológicas que presentaban los organismos, posteriormente en el siglo XIX se comenzó a utilizar una clasificación con un enfoque filogenético.

Los criterios de clasificación utilizados en la actualidad son varios: morfológicos, fisiológicos, bioquímicos, patogénicos e inmunológicos. Los cuales nos permiten no solo identificar el género y especie del microorganismo, si no también cual es el mejor tratamiento antibiótico a utilizar. Siguiendo la pauta observada en la

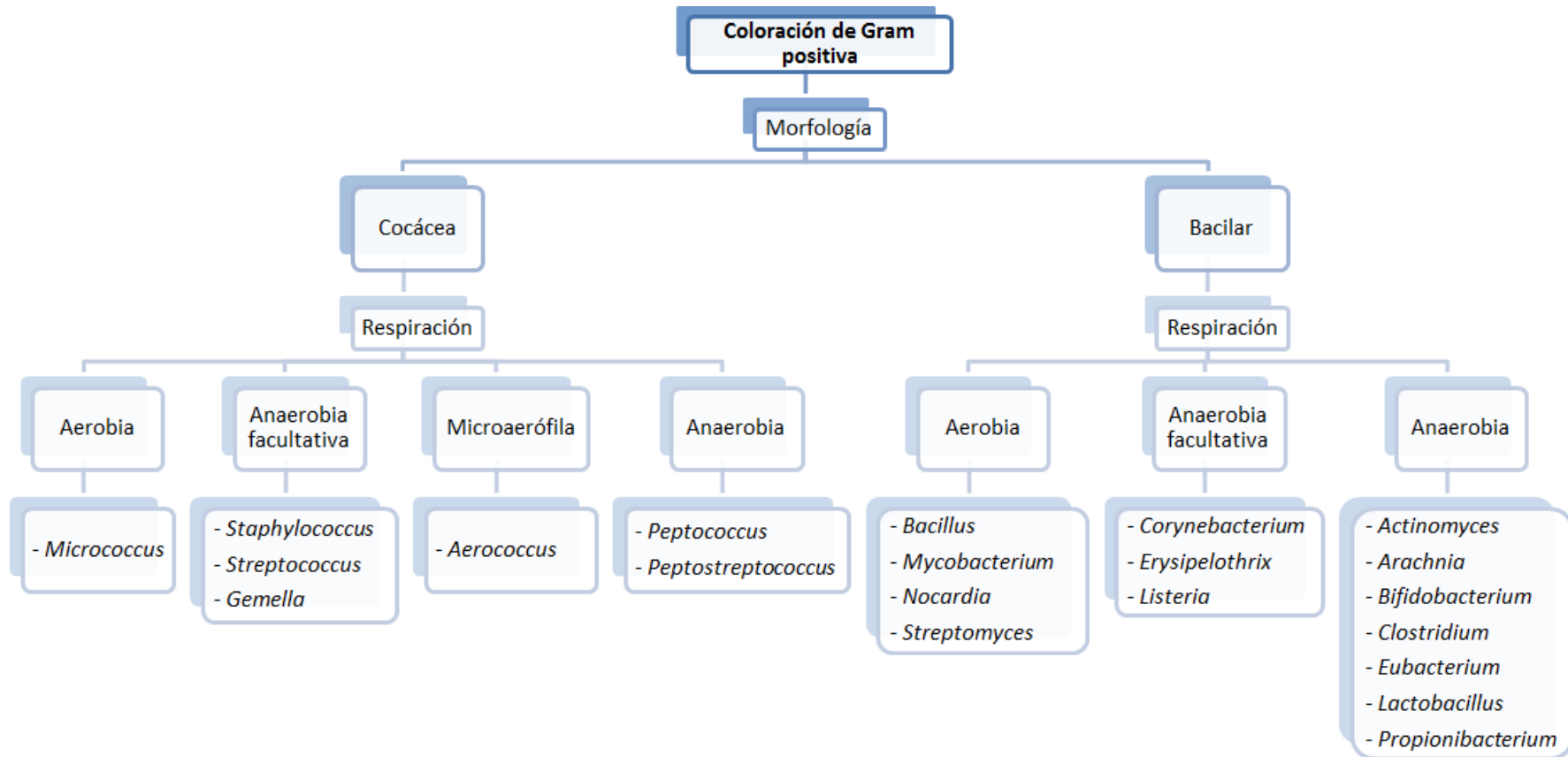
octava edición del «Manual de Bergey» (1974) y en los volúmenes 1 y 2 del «Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology», se ha realizado un esquema de diferenciación bacteriana utilizando características apreciables y de sencilla determinación (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 13. Esquema general de diferenciación de bacterias de interés clínico Gram negativas



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 14. Esquema general de diferenciación de bacterias de interés clínico Gram positivas



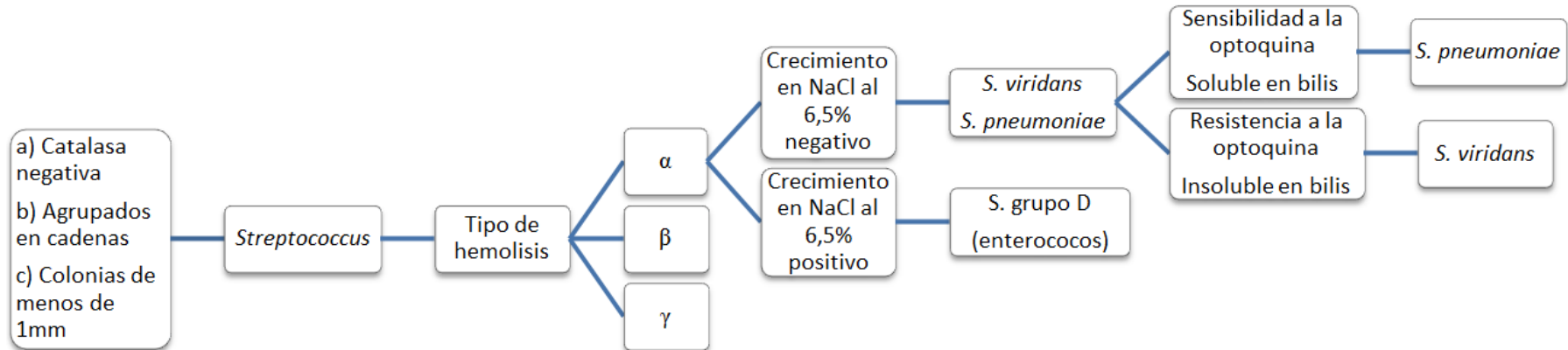
Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Cocos Gram positivos

Dentro de estas formas existen tres grupos de importancia clínica:

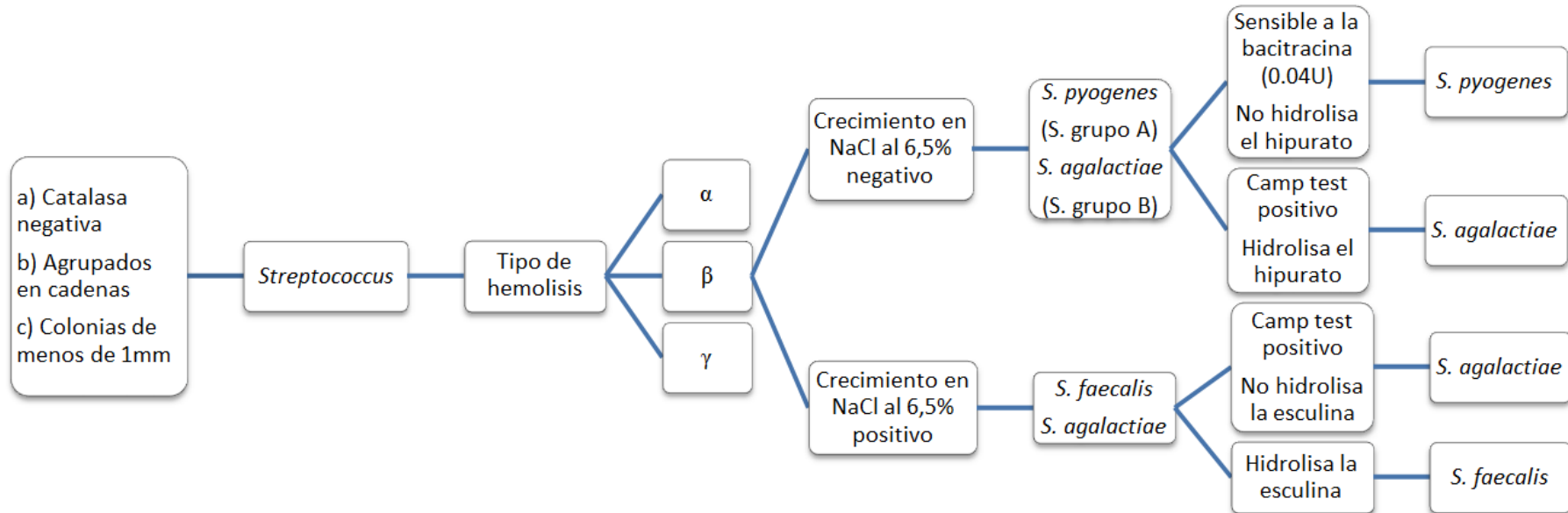
- a) Cocos Gram positivos agrupados en masas arracimadas y con morfología de células redondas es la imagen típica del genero *Staphylococcus*.
- b) Cocos Gram positivos agrupados en parejas o cadenas con morfología redonda o ligeramente oval corresponden a *Streptococcus*.
- c) Cocos Gram positivos agrupados irregularmente o en tétradas, de tamaño algo mayor que los anteriores y forma esférica, a veces algo asimétrica, es la morfología característica del genero *Micrococcus*, considerados normalmente de naturaleza saprofita (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 15. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos *Streptococcus* con alfa-hemolisis



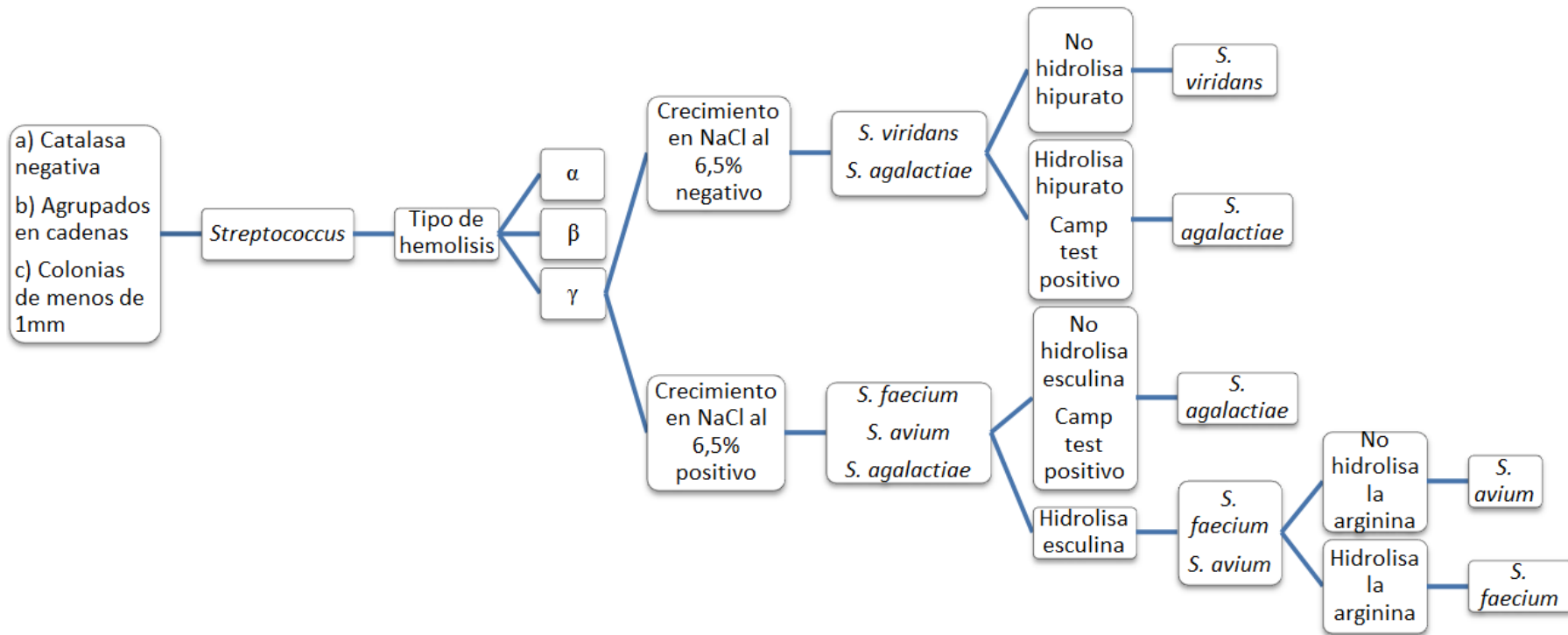
Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 16. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos *Streptococcus* con beta-hemolisis



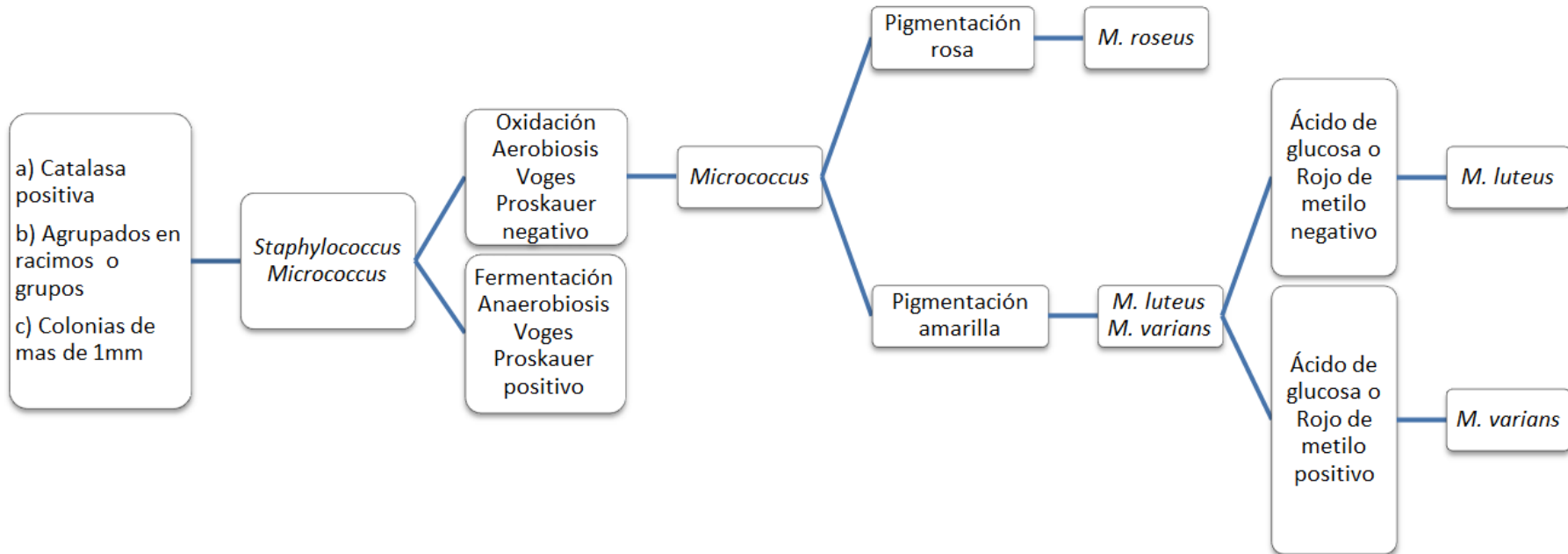
Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 17. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos *Streptococcus* con gamma-hemolisis



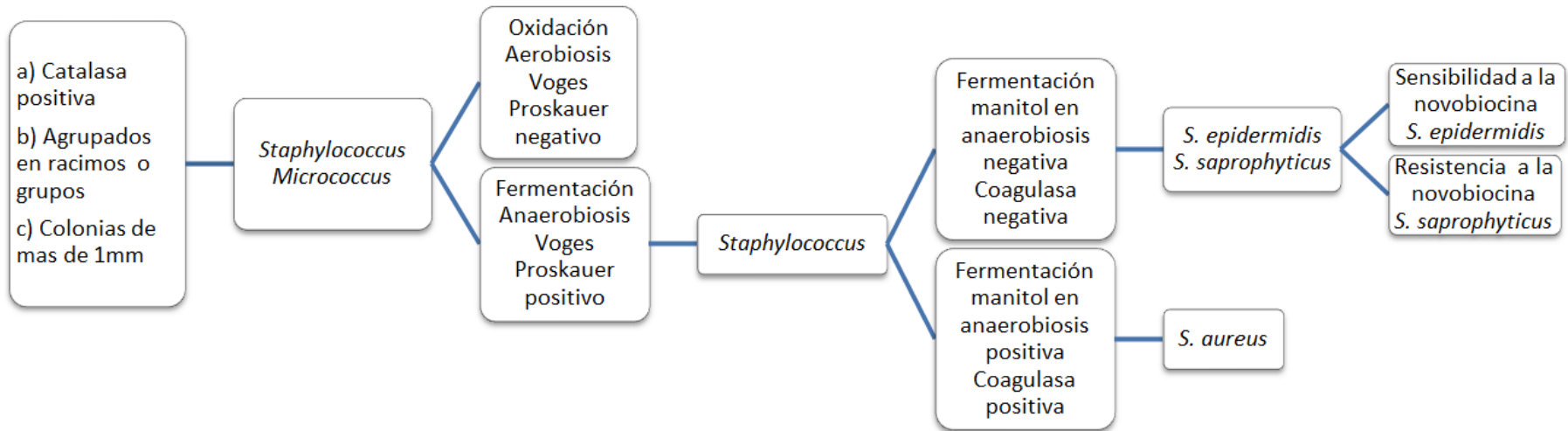
Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 18. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos *Micrococcus*



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 19. Clave diferencial de cocos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos *Staphylococcus*



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Diplococos y diplobacilos Gram negativos

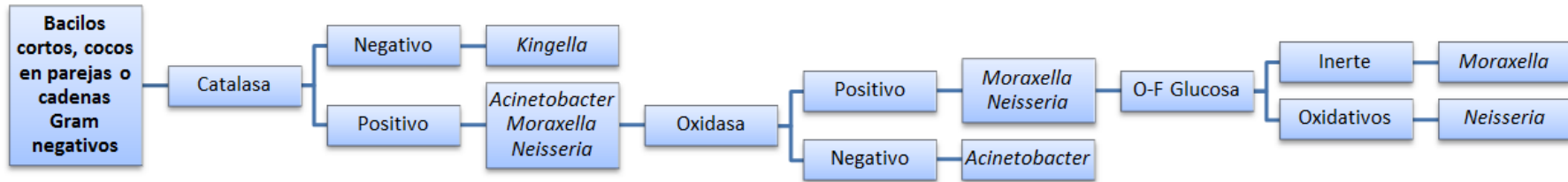
Familia *Neisseriaceae*

La familia *Neisseriaceae* está constituida por diplococos o diplobacilos Gram negativos aerobios estrictos, catalasa y oxidasa positiva (con la excepción de *Acinetobacter*, que es oxidasa negativa, y *Kingella*, que es catalasa negativa). En fase estacionaria suelen presentarse preferentemente como diplococos en forma de grano de café, mirándose por sus caras cóncavas o planas. A veces se agrupan en tétradas. El género *Neisseria* posee dos especies patógenas *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*, que con la excepción de *N. lactámica* se diferencia del resto de la familia en que son las únicas que crecen en medios selectivos (agar Thayer-Martin, New York Medium). *N. lactámica* se distingue a su vez de las patógenas en que es la única que fermenta la lactosa (ONPG positiva) y crece sobre agar nutritivo a 35°C.

Moraxella catarrhalis se diferencia del género *Neisseria* en que no actúa sobre los azúcares. Se considera patógeno oportunista de las vías respiratorias superiores, donde reside como saprófito. *Moraxella* y las especies saprófitas de *Neisseria* son comensales habituales de las vías respiratorias altas y de las mucosas genitales, por lo que es necesario saber distinguirla de las patógenas. La diferenciación se hará siempre sobre la base del cultivo en medios selectivos y de los resultados de las pruebas bioquímicas, no confiando nunca en la sola morfología apreciable al Gram. *Moraxella* se presenta en forma de diplobacilos Gram negativos. Aunque su pared posee configuración de Gram positivo se decolora extremadamente rápido, por lo que es considerado Gram negativo por la mayoría de los autores.

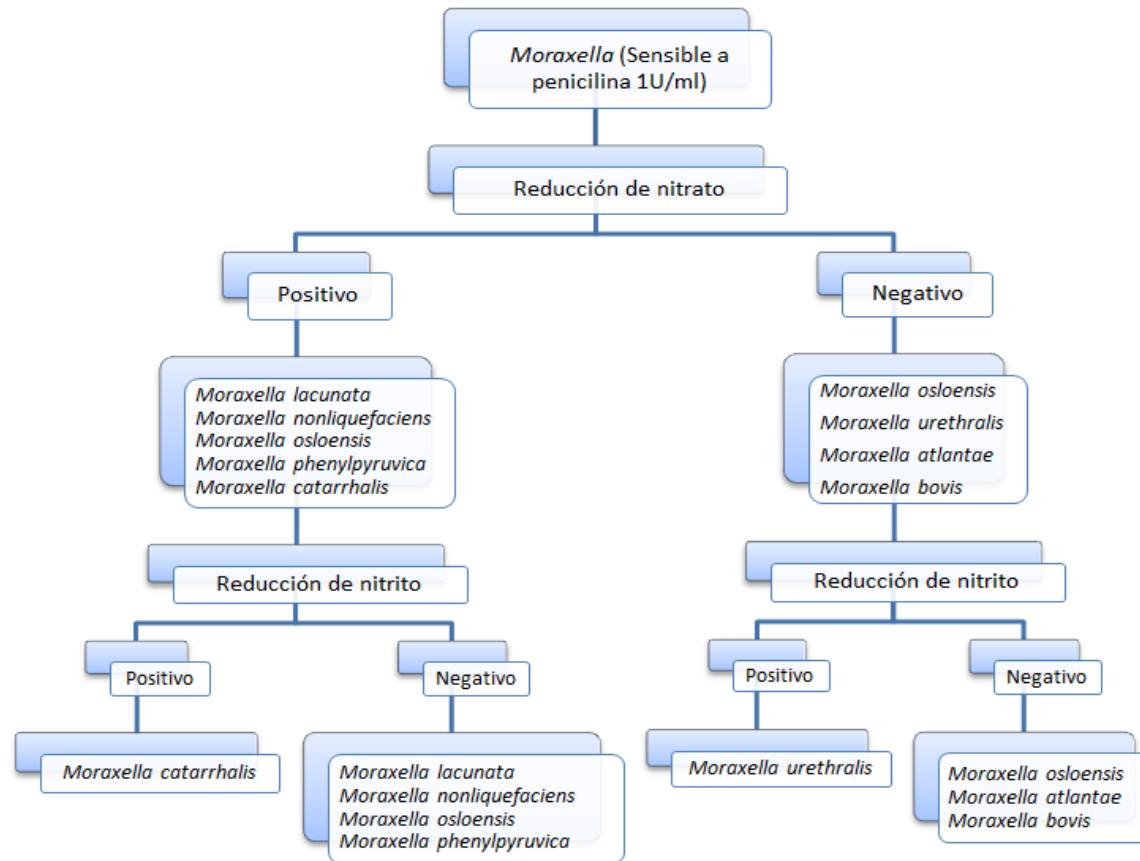
Acinetobacter acostumbra a tener forma de bacilo corto y grueso agrupado en parejas y cadenas cortas. Es un patógeno oportunista nosocomial, que crece bien en los medios de cultivo ordinarios y siempre es resistente a la penicilina (diferencia con los patógenos de los otros géneros) (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 20. Clave diferencial de bacilos cortos, cocos en parejas o cadenas Gram negativos.



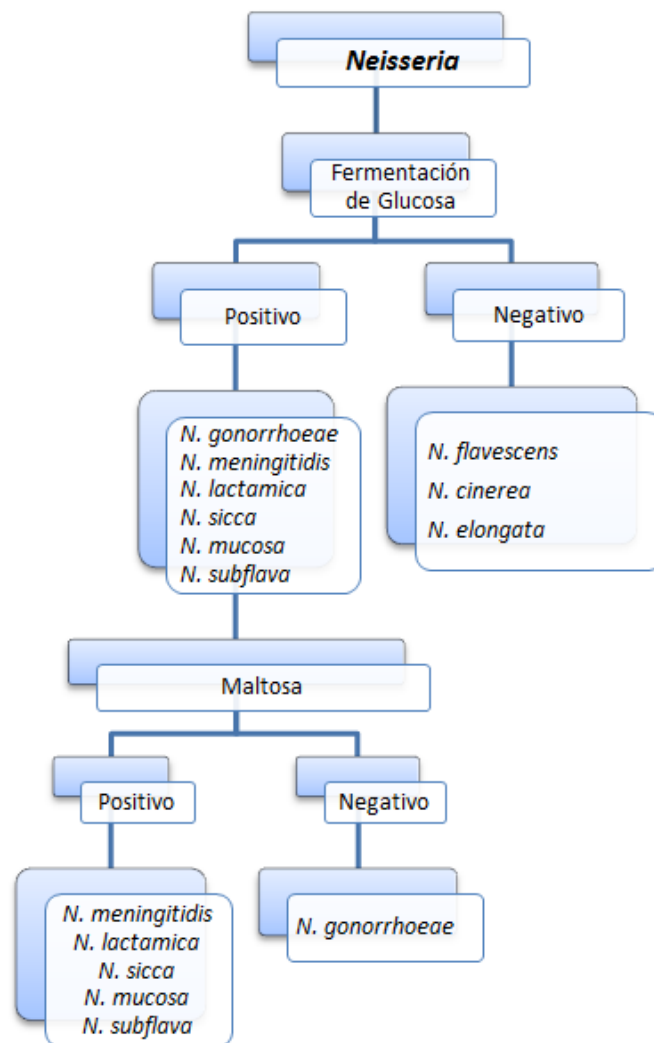
Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 21. Características diferenciales de especies *Moraxella*



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 22. Características diferenciales de especies *Neisseria*



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Bacilos Gram positivos

Entre los microorganismos agrupados con el nombre de bacilos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos hay gérmenes que presentan características morfológicas y fisiológicas muy particulares.

Bacillus: Es el único bacilo aerobio capaz de esporular, su única especie patógena es *B. anthracis*, productora del carbunco, es un bacilo grande (5 x 1 micra) e inmóvil.

Erysipelothrix rhusiopathiae: Es un fino bacilo (1,2 x 0,2 micras), inmóvil, catalasa negativo, que es responsable del mal rojo del cerdo.

Listeria monocytogenes: Es un bacilo pequeño, a veces coco-bacilar, que morfológicamente puede confundirse con *Streptococcus* del grupo D, de quien se diferencia por ser esta última catalasa negativa.

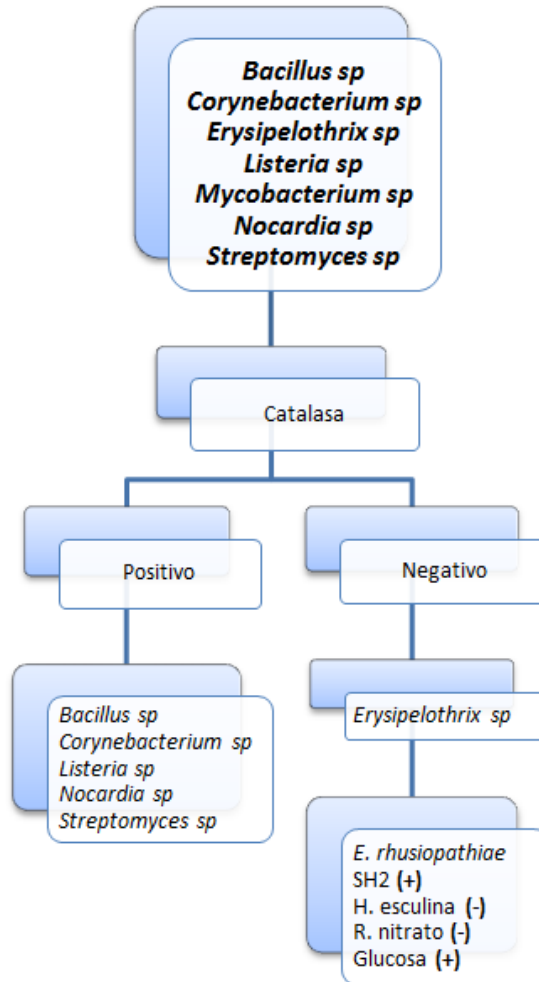
Corynebacterium diphtheriae: Son bacilos irregulares que acostumbran a presentarse en forma de maza, coloración irregular y gránulos metacromáticos internos. Su agrupación es característica en forma de letras chinas.

Mycobacterium: Aunque es considerado Gram positivo, coge tan débilmente el colorante de Gram que apenas se ve. Por ello se utiliza otras tinciones (auramina, Ziehl-Neelsen).

Nocardia: Es una bacteria filamentosa, ramificada, Gram positiva y Ziehl-Neelsen positiva.

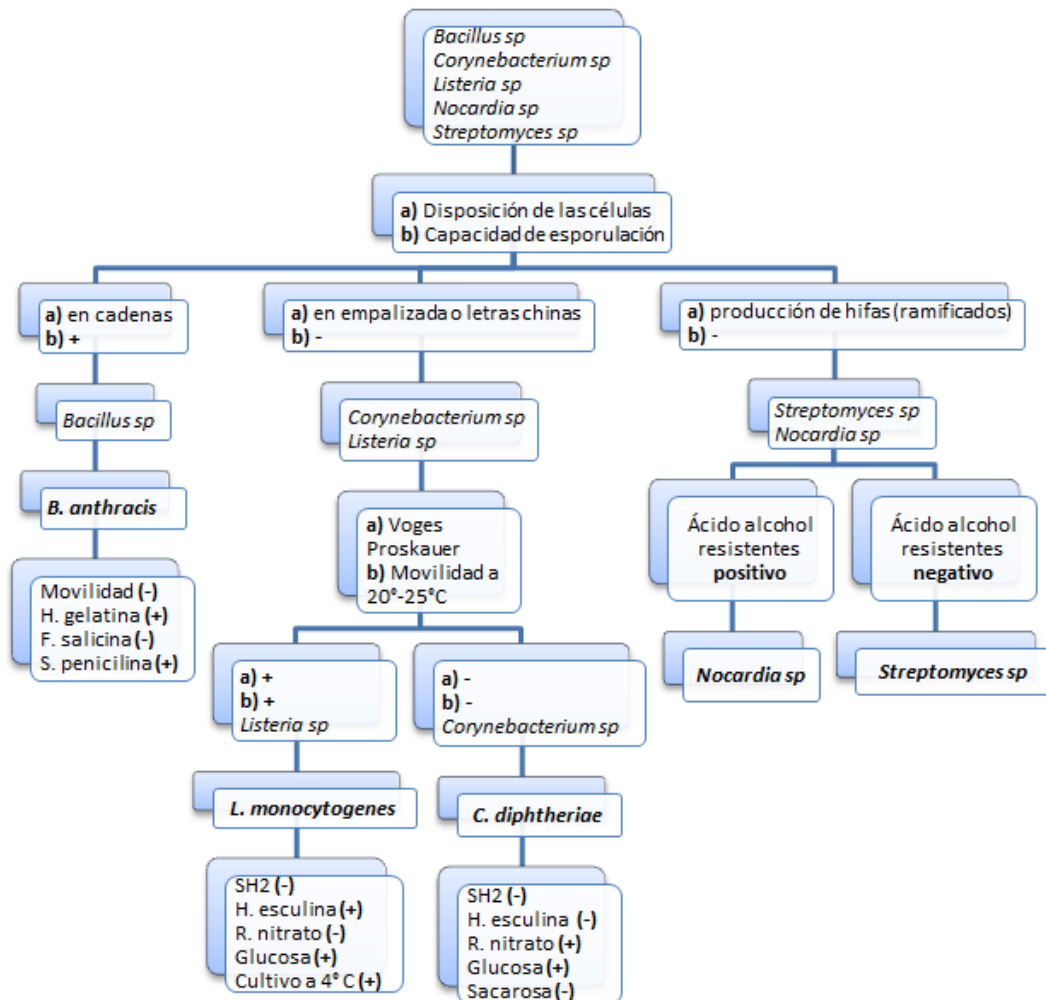
Streptomyces: Se presenta en forma de filamentos ramificados de los que se desgajan los conidios en rosario (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 23. Clave diferencial de Bacilos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Gráfico 24. Clave diferencial de Bacilos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos catalasa positivo

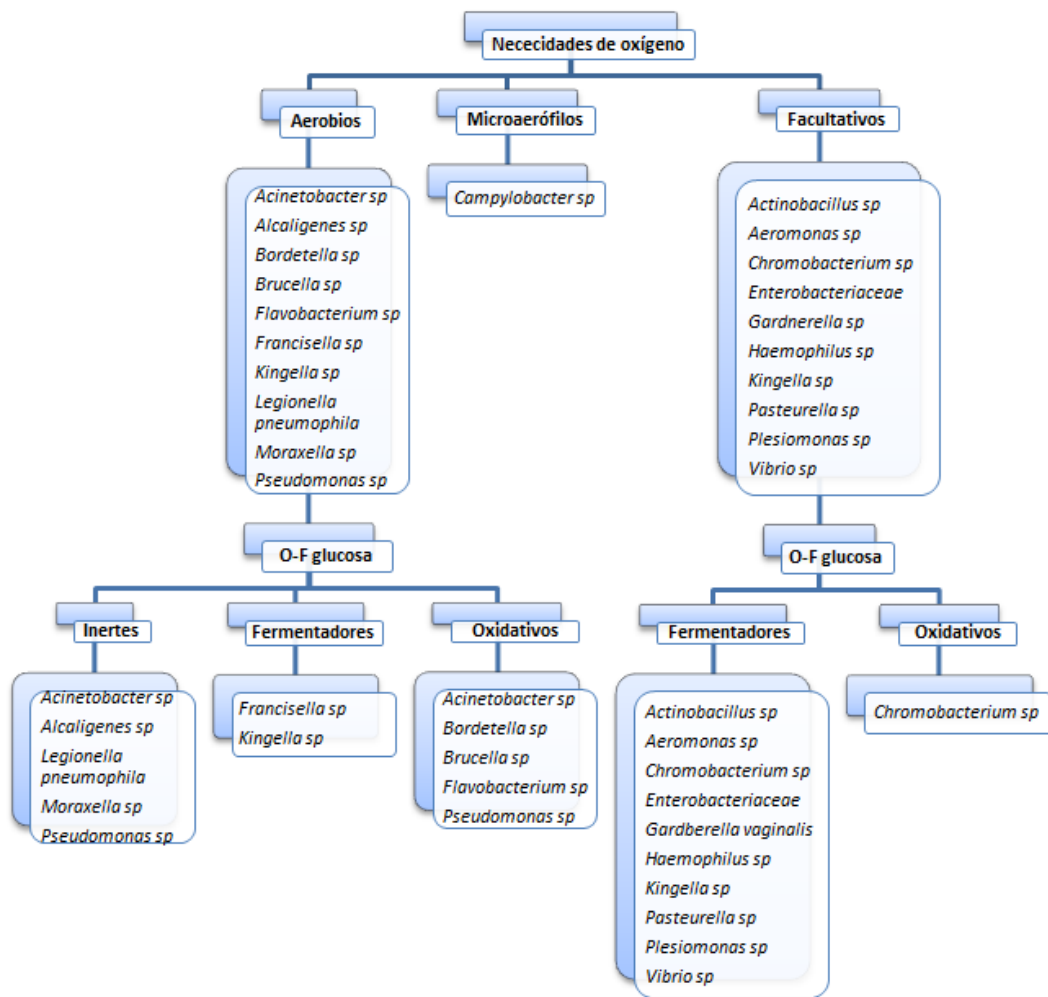


Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Bacilos Gram negativos

Clasificación de los principales bacilos Gram negativos aerobios y/o facultativos, su diferenciación se hace sobre la base de las necesidades respiratorias y la actuación frente los hidratos de carbono.

Gráfico 25. Clave diferencial de bacilos Gram negativos aerobios o facultativos



Fuente: (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

Pruebas Bioquímicas de Identificación

Pruebas de la Sensibilidad a la Bacitracina

Esta prueba puede utilizarse como diagnóstico presuntivo en la identificación de los *Streptococcus* beta-hemolíticos del grupo A de Lancefield, ya que, a diferencia de la mayoría de los *Streptococcus*, suelen ser sensibles a bajas concentraciones de Bacitracina.

Prueba de la Beta-Galactosidasa (ONPG)

Esta prueba demuestra la presencia de la enzima beta-galactosidasa en algunos microorganismos. Todos los gérmenes denominados fermentadores lentos de la lactosa son beta-galactosidasa positivo.

Prueba de Crecimiento en Bilis

La capacidad de crecimiento en medios con una determinada concentración en bilis, es una prueba utilizada para la identificación de ciertos anaerobios, como las especies de *Bacteroides* y *Fusobacterium*.

Prueba de Solubilidad en Bilis

Se basa en la capacidad de determinadas bacterias de lisarse en presencia de sales biliares, las más utilizadas son: el taurocolato y el desoxicolato de sodio. Ambas provocan un descenso de la tensión superficial, que, unido a la actuación de enzimas autolíticas, destruyen la célula. El efecto de esta enzima autolíticas se pone de manifiesto también sobre las colonias viejas de *S. pneumoniae* crecidas en medios sólidos, en las que se aprecia una umbilicación central.

Prueba de Bilis-Esculina

Esta prueba determina la propiedad que poseen algunos microorganismos de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa, en presencia de un 10 a un 40 por 100 de bilis.

Prueba del Camp

Es una prueba presuntiva de identificación de los *Streptococcus* del grupo B, descrita por Christie, Atkins y Munch-Petersen.

Está basada en la potenciación de la zona de lisis formada por *Staphylococcus aureus* productores de beta-lisina, por una sustancia denominada CAMP-factor, elaborada por los *Streptococcus* del grupo B.

Prueba de la Catalasa

La catalasa es una enzima propia de la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que poseen citocromos, con la excepción de *Streptococcus*. Su función es descomponer el peróxido de hidrógeno, desprendiendo oxígeno libre.

Prueba del Citrato

Determina la capacidad que poseen algunos microorganismos de utilizar como única fuente de carbono el citrato, produciendo alcalinidad.

Prueba del CNK

Sirve para poner de manifiesto aquellas bacterias que son capaces de crecer en un medio que contiene cianuro potásico.

Prueba de la Coagulasa

Consiste en poner de manifiesto la enzima coagulasa que poseen algunos *Staphylococcus*.

Prueba de la DNasa

Se basa en la capacidad que poseen ciertas bacterias para hidrolizar enzimáticamente el ácido desoxirribonucleico, produciendo una mezcla de mono y polinucleótidos.

Hidrolisis de la Esculina

Hay microorganismos con capacidad de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa.

Requerimiento de Factores de Crecimiento V y X

El género *Haemophilus* necesita para su crecimiento la presencia de factor X (porción Hem de la hemoglobina) y el factor V (dinucleótido adenina nicotinamida). La necesidad de uno o ambos factores se utiliza para la diferenciación de las especies de *Haemophilus*.

Prueba de la Fenilalanina Desaminasa

Se basa en la capacidad que poseen algunas bacterias de desaminar la fenilalanina, produciendo ácido fenil pirúvico.

Prueba de la Licuación de la Gelatina

Esta prueba determina la capacidad de ciertos microorganismos de hidrolizar la gelatina a péptidos y aminoácidos, mediante la acción de enzimas específicas denominadas gelatinasas.

Prueba del Tubo de Germinación (Test de filamentación)

Es una prueba de gran valor para la identificación rápida y presuntiva de *Candida albicans*, que con *Candida stellatoidea* son las únicas levaduras del género *Candida*, capaces de producir tubos germinales.

Producción de Hemolisis

Los microorganismos, cuando se cultivan *in vitro* sobre medios que contienen sangre, pueden producir alrededor de las colonias unas zonas de hemolisis.

Utilización de Hidratos de Carbono

Esta prueba determina la capacidad de un microorganismo para actuar sobre un hidrato de carbono específico, incorporado a un medio de cultivo base, produciendo ácido o ácido y gas.

El indicador incluido en el medio es rojo de fenol, que a pH 7,4 es de color rosa-rojizo y a pH ácido vira a amarillo.

Los hidratos de carbono más utilizados son: glucosa, lactosa, sacarosa, arabinosa, maltosa, manosa, rafinosa, fructosa, xilosa, trehalosa, galactosa, ramnosa, melobiosa, almidón, manitol, sorbitol, inositol, adonitol, inulina, salicina y amigdalina.

Hidrolisis del Hipurato

Esta prueba determina la capacidad de algunos microorganismos de hidrolizar el Hipurato sódico produciendo ácido benzoico, que se pone de manifiesto al añadir una solución de cloruro férrico.

Producción de Indol

La prueba del indol determina la capacidad de las bacterias de degradar el triptófano dando indol. Algunas bacterias, gracias a la enzima triptofanasa hidrolizan el aminoácido, dando indol, ácido pirúvico y amoníaco. La presencia de indol se detecta observando la formación de una coloración rosa-rojo en el medio al añadir para-dimetilaminobenzaldehído.

Prueba del Malonato

Pone de manifiesto la capacidad que poseen determinadas bacterias de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente liberación del catión, que en presencia de iones agua produce alcalinidad.

Prueba de la Movilidad

La movilidad es una característica importante al hacer una determinación bacteriana, pues indirectamente señala que el microorganismo posee flagelos, rasgo taxonómico que es difícil poner de manifiesto por otros métodos, incluidos los tintoriales.

Prueba de Reducción de Nitrato

Algunos microorganismos utilizan el nitrato en una vía alternativa como fuente de energía, reduciéndolo a nitrito o nitrógeno libre. Esta propiedad es una característica importante en la diferenciación de muchos grupos bacterianos.

Prueba de la Sensibilidad a la Novobiocina

Los *Staphylococcus* coagulasa negativos pueden diferenciarse en dos grupos, según sean sensibles o no a la novobiocina (5µg).

Staphylococcus epidermidis es sensible, mientras que *Staphylococcus saprophyticus* no lo es.

Prueba de Rojo de Metilo

Se funda en la capacidad que poseen algunos microorganismos de actuar sobre la glucosa, y a través del ácido pirúvico producir una fermentación ácido-mixta, capaz de bajar el pH a una cifra igual o inferior a 4,4.

Producción de Ácido Sulfhídrico

Algunas especies bacterianas heterotróficas son capaces de liberar azufre enzimáticamente de los aminoácidos que lo contengan, produciendo ácido sulfhídrico. La enzima responsable de esta actividad, es la cisteinasa.

Prueba de Reducción del Telurito

Esta prueba diferencia algunas especies del género *Mycobacterium*, como el *Mycobacterium avium-complex*, basándose en la propiedad que tienen de reducir el telurito potásico a telurio.

Prueba de la Tinta China

Esta prueba utiliza para poner en evidencia la cápsula de polisacáridos, presente en la especie *Cryptococcus neoformans*.

Prueba de Agar Hierro de Kligler y Agar Triple Azúcar Hierro (T.S.I.)

Son medios utilizados preferentemente para la diferenciación de *Enterobacteriaceae*. En ellos se puede determinar las fermentaciones de los hidratos de carbono, la producción de gas y de sulfhídrico.

Prueba de la Urea

Determina la capacidad de un organismo para desdoblar la urea, en amoníaco y CO₂, por acción de la enzima ureasa. La visualización del proceso se fundamenta en la alcalinización producida en el medio de cultivo se detecta mediante un indicador de pH (rojo de fenol).

Prueba de Voges-Proskauer

Se basa en la capacidad que poseen determinados microorganismos de producir acetil-metil-carbinol a partir de la degradación de la glucosa. En presencia de oxígeno y de una solución de OHK AL 40 por 100, el acetil-metil-carbinol se convierte en diacetilo, el cual, en contacto con alfa-naftol produce color rojo (Alvarez, Boquet, & De Fez, 1990).

2.4.5 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Los ensayos de susceptibilidad están indicados para apoyar la quimioterapia antimicrobiana de tratamiento en procesos infecciosos por bacterias en las que la identidad del microorganismo no es suficiente para predecir en forma confiable su susceptibilidad. Estos ensayos son a menudo indicados cuando se piensa que el organismo causante pertenece a una especie capaz de mostrar resistencia a los agentes antimicrobianos más comúnmente usados. Los mecanismos de resistencia incluyen la producción de enzimas inactivantes de la droga, que alteran el objetivo, o alteran la acción. Las pruebas de más amplia difusión son la investigación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), y el Antibiograma (Prat, 2010).

Existen varias pruebas para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana, las cuales se las ha clasificado por categorías:

La primera categoría está representada por la prueba de dilución y la prueba de difusión con disco, que valoran la actividad inhibitoria de un antimicrobiano frente a un microorganismo determinado.

En la segunda están las pruebas que determinan la actividad letal de un antimicrobiano frente a un determinado microorganismo.

La tercera categoría abarca a la determinación de la actividad β -lactamasa en un determinado microorganismo, como elemento pronóstico de su sensibilidad frente a algunos antibióticos β -lactámicos.

En la cuarta categoría están las pruebas que determinan directa o indirectamente la cantidad de antimicrobiano en un líquido biológico, habitualmente el suero, como son las pruebas bactericidas séricas y los estudios específicos de antimicrobianos (Davey, y otros, 2007).

Método de dilución

En la prueba de dilución, el microorganismo es inoculado en una serie de pocillos que contienen una serie de concentraciones desde la más alta hasta la más baja. De esta forma la concentración más baja que inhiba el crecimiento visible se denominada concentración mínima inhibitoria o CMI (Davey, y otros, 2007).

Método de difusión en disco

Este tipo de prueba está limitada para bacterias aerobias y anaerobias facultativas de crecimiento rápido, se aplica un disco de papel impregnado con una cantidad específica de antimicrobiano, el cual se aplica en un agar previamente inoculado con el microorganismo objeto de estudio. El antibiótico difunde en el agar formando un halo de inhibición, el cual es medido e interpretado para el posterior reporte de susceptibilidad presentado (Davey, y otros, 2007).

E-test

El E-test es un método de dilución basado en la difusión de un gradiente continuo de concentración de un antimicrobiano a partir de una tira plástica en un medio de agar. Esta forma una elipse de inhibición en la cual la CMI se lee en el punto de la escala donde la elipse cruza la tira (Davey, y otros, 2007).

Concentración mínima bactericida o letal

Con respecto a la CMB o CML, es utilizada en la investigación de un nuevo antimicrobiano. Para su determinación se inocula el antimicrobiano en caldo, diluido de forma seriada (en una base \log_2) con una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio. La menor concentración es bactericida o letal se establece para al menos el 99,9% del inóculo original (Davey, y otros, 2007).

Estudio de la tasa de muertes

Esta técnica nos permite detectar la tolerancia, sinergia, o antagonismo entre dos o más antibióticos. El valor de esta prueba para casos como meningitis bacteriana es muy elevado, ya que es necesario un tratamiento bactericida para la curación, valorando más el método muerte-tiempo en contraste con los resultados de la CMB (Davey, y otros, 2007).

Estudio bactericida del suero

Esta prueba consiste básicamente en enfrentar el suero del paciente con un aislado determinado de microorganismos del mismo paciente, y de esta forma evaluar la actividad bactericida de uno o más antimicrobianos a los cuales ha sido sometido (Davey, y otros, 2007).

2.4.6 Antibiograma

Varios métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar in vitro la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos. En muchos laboratorios de microbiología clínica, el test de difusión en agar es usado en forma rutinaria para bacterias de rápido crecimiento y algunas bacterias fastidiosas patógenas.

Los ensayos de susceptibilidad basados solamente en la presencia o ausencia de una zona de inhibición sin importar su tamaño, no son aceptables. Resultados confiables sólo se pueden obtener con un disco de ensayo de difusión que use el principio de metodología estandarizada y con medidas de diámetro de zona correlacionada con la determinación de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) con cepas conocidas susceptibles y resistentes a varios antibióticos.

El método que actualmente recomienda el Sub Comité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS está basado en el método originalmente descrito por Bauer et al., (método de Kirby-Bauer). Este es el método de difusión en disco en

que se han desarrollado estándares para su interpretación y está apoyado por datos clínicos y de laboratorio (Prat, 2010).

Normas para lectura e interpretación del antibiograma expuesto por la CLSI

Las normativas por las cuales se rigen los laboratorios de microbiología son establecidas por el *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, esta es una organización internacional, interdisciplinaria, normativa y educativa, sin ánimo de lucro, que promueve la formulación y la aplicación de normas y recomendaciones de consenso voluntario dentro de la comunidad de atención de la salud. El CLSI es reconocido en todo el mundo por la aplicación de su exclusivo método de consenso en la formulación de normas y recomendaciones para las pruebas realizadas en muestras de pacientes y las cuestiones relacionadas con la atención sanitaria (CLSI, 2013).

Tabla 3. Propuesta de agrupación de los antimicrobianos con indicaciones clínicas de la FDA que deben incluirse en las pruebas de susceptibilidad y notificaciones sistemáticas para los microorganismos cuyo cultivo no es exigente, en los laboratorios clínicos de microbiología en los Estados Unidos.

	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i> ^m
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin ^g	Ceftazidime	Azithromycin ^c or clarithromycin ^c or erythromycin ^c Clindamycin ^c *†Oxacillin ^{h,k} †Cefoxitin ^{h,k}	Ampicillin Penicillin ⁿ
	Cefazolin ^f	Gentamicin Tobramycin	Penicillin ⁱ	
	Gentamicin Tobramycin	Piperacillin	Trimethoprim- sulfamethoxazole	
GROUP B PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Amikacin	Ceftaroline ^h *Daptomycin ^l	*Daptomycin ^l
		Aztreonam	Linezolid	Linezolid
	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Cefepime		
	Cefuroxime		Doxycycline ^c Minocycline ^c Tetracycline ^a	Vancomycin
		Ciprofloxacin Levofloxacin	**†Vancomycin	
	Cefepime	Doripenem Imipenem Meropenem	Rifampin ^o	
	Cefotetan Cefoxitin	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin		
	Cefotaxime ^{g,i} or ceftriaxone ^{e,f}			
	Ciprofloxacin ^g Levofloxacin ^e			
	Doripenem Ertapenem Imipenem Meropenem Piperacillin			
Trimethoprim-sulfamethoxazole ^g				
GROUP C SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Aztreonam Ceftazidime		Chloramphenicol ^c	Gentamicin (high-level resistance screen only)
	Ceftaroline		Ciprofloxacin or levofloxacin or ofloxacin Moxifloxacin Gentamicin ^l	Streptomycin (high-level resistance screen only)
	Chloramphenicol ^{c,e}			
	Tetracycline ^a			
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY	Cephalothin ^d	Lomefloxacin or ofloxacin	Lomefloxacin Norfloxacin	Ciprofloxacin Levofloxacin Norfloxacin
	Lomefloxacin or ofloxacin	Norfloxacin		
	Norfloxacin			
	Nitrofurantoin		Nitrofurantoin	Nitrofurantoin
			Sulfisoxazole	
	Sulfisoxazole Trimethoprim		Trimethoprim	Tetracycline ^a

Fuente: (CLSI, 2013).

Tabla 3. (cont.).

GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	<i>Acinetobacter</i> spp. ⁹	<i>Burkholderia cepacia</i> ⁹	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ⁹	*Other Non-Enterobacteriaceae ⁹	
	Ampicillin-sulbactam	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ceftazidime	
	Ceftazidime				
	Ciprofloxacin Levofloxacin			Gentamicin Tobramycin Piperacillin	
	Imipenem Meropenem				
	Gentamicin Tobramycin				
GROUP B PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Ceftazidime	*Ceftazidime	Amikacin	
	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate	*Chloramphenicol ^c	*Chloramphenicol ^c	Aztreonam	
		*Levofloxacin	Levofloxacin	Cefepime	
		Meropenem	Minocycline	Ciprofloxacin Levofloxacin	
	Cefepime	Minocycline	*Ticarcillin-clavulanate	Imipenem Meropenem	
		*Ticarcillin-clavulanate		Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate	
	Cefotaxime Ceftriaxone	Doxycycline Minocycline Tetracycline	Piperacillin	Trimethoprim-sulfamethoxazole	
	Piperacillin				
					Trimethoprim-sulfamethoxazole
	GROUP C SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY				Cefotaxime Ceftriaxone
					Chloramphenicol ^c
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY				Lomefloxacin or ofloxacin	
				Norfloxacin	
				Sulfisoxazole	
				Tetracycline ⁹	

Fuente: (CLSI, 2013).

Tabla 4. Normas para la interpretación del diámetro del halo de inhibición y puntos de corte equivalente de concentración inhibitoria mínima para *Enterobacteriaceae*.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria ($\mu\text{g/mL}$)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Ampicillin	10 μg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 8	16	≥ 32	(4) Results of ampicillin testing can be used to predict results for amoxicillin. See comment (2).
B	Piperacillin	100 μg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Mecillinam	10 μg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 8	16	≥ 32	(5) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only.
O	Ticarcillin	75 μg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 16	32–64	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
B	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 μg	≥ 18	14–17	≤ 13	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	≥ 15	12–14	≤ 11	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	≥ 21	18–20	≤ 17	$\leq 16/4$	32/4–64/4	$\geq 128/4$	
B	Ticarcillin-clavulanate	75/10 μg	≥ 20	15–19	≤ 14	$\leq 16/2$	32/2–64/2	$\geq 128/2$	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
<p>(6) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active <i>in vitro</i>, but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.</p> <p>(7) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions, revised interpretive criteria for cephalosporins (cefazolin, cefotaxime, ceftazidime, ceftizoxime, and ceftriaxone) and aztreonam were first published in January 2010 (M100-S20) and are listed in this table. Cefazolin interpretive criteria were revised again in June 2010 and are listed below. Cefepime and cefuroxime (parenteral) were also evaluated; however, no change in interpretive criteria was required for the dosages indicated below. When using the current interpretive criteria, routine ESBL testing is no longer necessary before reporting results (ie, it is no longer necessary to edit results for cephalosporins, aztreonam, or penicillins from susceptible to resistant). However, ESBL testing may still be useful for epidemiological or infection control purposes. For laboratories that have not implemented the current interpretive criteria, ESBL testing should be performed as described in Table 2A Supplemental Table 1.</p> <p>Note that interpretive criteria for drugs with limited availability in many countries (eg, moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone) were not evaluated. If considering use of these drugs for <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i>, or <i>Proteus</i> spp., ESBL testing should be performed (see Table 2A Supplemental Table 1). If isolates test ESBL positive, the results for moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone should be reported as resistant.</p> <p>(8) <i>Enterobacter</i>, <i>Citrobacter</i>, and <i>Serratia</i> may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins as a result of derepression of AmpC β-lactamase. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.</p>									
A	Cefazolin	30 μg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 2	4	≥ 8	(9) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 2 g every 8 h. See comment (7).
C	Ceftaroline	30 μg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 0.5	1	≥ 2	(10) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.
U	Cephalothin	30 μg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	(11) Cephalothin interpretive criteria can be used only to predict results to the oral agents, cefadroxil, cefpodoxime, cephalexin, and loracarbef. Older data that suggest that cephalothin results could predict susceptibility to some other cephalosporins may still be correct, but there are no recent data to confirm this.

Tabla 4. (cont.).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)									
B	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	(12) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h or 2 g every 12 h. See comment (7).
B B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg 30 µg	≥ 26 ≥ 23	23–25 20–22	≤ 22 ≤ 19	≤ 1 ≤ 1	2 2	≥ 4 ≥ 4	(13) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h for ceftriaxone and 1 g every 8 h for cefotaxime. See comment (7).
B	Cefotetan	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	(14) The interpretive criteria are based on a dosage regimen of at least 8 g per day (eg, 2 g every 6 h).
B	Cefoxitin	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	(15) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h. See comment (7).
C	Ceftazidime	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16	(16) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (7).
O	Cefamandole	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	See comment (7).
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	(17) Insufficient new data exist to reevaluate interpretive criteria listed here.
O	Cefonicid	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	See comment (7).
O	Cefoperazone	75 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 16	32	≥ 64	See comment (7).
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 25	22–24	≤ 21	≤ 1	2	≥ 4	(18) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. See comment (7).
O	Moxalactam	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	See comment (7).
CEPHEMS (ORAL)									
B	Cefuroxime (oral)	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 4	8–16	≥ 32	(19) Do not test <i>Citrobacter</i> , <i>Providencia</i> , or <i>Enterobacter</i> spp. with cefdinir or loracarbef by disk diffusion because false-susceptible results have been reported.
O	Loracarbef	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefaclor	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	See comment (19).
O	Cefdinir	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefixime	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	(20) Do not test <i>Morganella</i> spp. with cefixime by disk diffusion.
O	Cefpodoxime	10 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 2	4	≥ 8	See comment (20).
O	Cefprozil	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	(21) Do not test <i>Providencia</i> spp. with cefprozil by disk diffusion because false-susceptible results have been reported.
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	See comment (20).
Inv.	Ceftibuten	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32	(22) For testing and reporting of urine isolates only.

Tabla 4. (cont.).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
MONOBACTAMS									
C	Aztreonam	30 µg	≥21	18–20	≤17	≤4	8	≥16	(23) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (7).
CARBAPENEMS									
<p>(24) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions that include recently described carbapenemase-producing strains, revised interpretive criteria for carbapenems were first published in June 2010 (M100-S20-U) and are listed below. Because of limited treatment options for infections caused by organisms with carbapenem MICs or zone diameters in the intermediate range, clinicians may wish to design carbapenem dosage regimens that use maximum recommended doses and possibly prolonged intravenous infusion regimens, as has been reported in the literature.¹⁻⁴ Consultation with an infectious diseases practitioner is recommended for isolates for which the carbapenem MICs or zone diameter results from disk diffusion testing are in the intermediate or resistant ranges.</p> <p>Until laboratories can implement the current interpretive criteria, the modified Hodge test (MHT) should be performed as described in the updated Table 2A Supplemental Table 3. After implementation of the current interpretive criteria, the MHT does not need to be performed other than for epidemiological or infection control purposes (refer to Table 2A Supplemental Table 2).</p> <p>The following information is provided as background on carbapenemases in <i>Enterobacteriaceae</i> that are largely responsible for MICs and zone diameters in the new intermediate and resistant ranges, and thus the rationale for setting revised carbapenem breakpoints:</p> <ul style="list-style-type: none"> The clinical effectiveness of carbapenem treatment of infections produced by isolates for which the carbapenem MIC or disk diffusion test results are within the new intermediate (I) range is uncertain due to lack of controlled clinical studies. Imipenem MICs for <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp., and <i>Morganella morganii</i> tend to be higher (eg, MICs in the new intermediate or resistant range) than meropenem or doripenem MICs. These isolates may have elevated imipenem MICs by mechanisms other than production of carbapenemases. 									
B	Doripenem	10 µg	≥23	20–22	≤19	≤1	2	≥4	(25) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 500 mg every 8 h.
B	Ertapenem	10 µg	≥22	19–21	≤18	≤0.5	1	≥2	(26) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h.
B	Imipenem	10 µg	≥23	20–22	≤19	≤1	2	≥4	(27) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 500 mg every 6 h or 1 g every 8 h.
B	Meropenem	10 µg	≥23	20–22	≤19	≤1	2	≥4	(28) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h.
AMINOGLYCOSIDES									
(29) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., aminoglycosides may appear active <i>in vitro</i> but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.									
A	Gentamicin	10 µg	≥15	13–14	≤12	≤4	8	≥16	
A	Tobramycin	10 µg	≥15	13–14	≤12	≤4	8	≥16	
B	Amikacin	30 µg	≥17	15–16	≤14	≤16	32	≥64	
O	Kanamycin	30 µg	≥18	14–17	≤13	≤16	32	≥64	
O	Netilmicin	30 µg	≥15	13–14	≤12	≤8	16	≥32	
O	Streptomycin	10 µg	≥15	12–14	≤11	–	–	–	(30) There are no MIC interpretive standards.

Tabla 4. (cont.).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
TETRACYCLINES									
(31) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline, minocycline, or both.									
C	Tetracycline	30 µg	≥15	12–14	≤11	≤4	8	≥16	
O	Doxycycline	30 µg	≥14	11–13	≤10	≤4	8	≥16	
O	Minocycline	30 µg	≥16	13–15	≤12	≤4	8	≥16	
FLUOROQUINOLONES									
NOTE: Reevaluation of fluoroquinolones is ongoing.									
See comment (2).									
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥21	16–20	≤15	≤1	2	≥4	(32) For testing and reporting of <i>Enterobacteriaceae</i> except for <i>Salmonella</i> spp.
B	Levofloxacin	5 µg	≥17	14–16	≤13	≤2	4	≥8	
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥31	21–30	≤20	≤0.06	0.12–0.5	≥1	(33) For testing and reporting of <i>Salmonella</i> spp. (including <i>S. Typhi</i> and <i>S. Paratyphi A–C</i>). See comment (2).
B	Levofloxacin	–	–	–	–	≤0.12	0.25–1	≥2	(34) If MIC testing is not performed or if interpretive criteria cannot be implemented, see comment (37).
B	Ofloxacin	–	–	–	–	≤0.12	0.25–1	≥2	
U	Lomefloxacin or ofloxacin	10 µg	≥22	19–21	≤18	≤2	4	≥8	
U	Norfloxacin	5 µg	≥16	13–15	≤12	≤2	4	≥8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥17	13–16	≤12	≤4	8	≥16	
O	Enoxacin	10 µg	≥18	15–17	≤14	≤2	4	≥8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥18	15–17	≤14	≤2	4	≥8	
O	Gemifloxacin	5 µg	≥20	16–19	≤15	≤0.25	0.5	≥1	(35) FDA-approved for <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
O	Grepafloxacin	5 µg	≥18	15–17	≤14	≤1	2	≥4	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥19	16–18	≤15	≤2	4	≥8	

Tabla 4. (cont.).

QUINOLONES									
O	Cinoxacin	100 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	See comment (22).
O	Nalidixic acid	30 µg	≥ 19	14–18	≤ 13	≤ 16	–	≥ 32	(36) These interpretive criteria are for urinary tract isolates of <i>Enterobacteriaceae</i>, and for all isolates of <i>Salmonella</i>. (37) Until laboratories can implement the current interpretive criteria for ciprofloxacin, levofloxacin, and/or ofloxacin , nalidixic acid may be used to test for reduced fluoroquinolone susceptibility in <i>Salmonella</i> . Strains of <i>Salmonella</i> that test resistant to nalidixic acid may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with salmonellosis. Note that nalidixic acid may not detect all mechanisms of fluoroquinolone resistance. See comment (22).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/ 23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	See comment (2).
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 256	–	≥ 512	(38) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 8	–	≥ 16	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13–17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	(39) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
FOSFOMYCINS									
O	Fosfomicin	200 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 64	128	≥ 256	(40) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only. (41) The 200-µg fosfomicin disk contains 50 µg of glucose-6-phosphate. (42) The only approved MIC method for testing is agar dilution using agar media supplemented with 25 µg/mL of glucose-6-phosphate. Broth dilution MIC testing should not be performed.
NITROFURANS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	

Fuente: (CLSI, 2013).

Tabla 5. Pruebas de detección y de confirmación de producción de betalactamasa de espectro extendido en *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*.

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	MHA	CAMHB	MHA	CAMHB
Antimicrobial concentration	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime 10 µg or Ceftazidime 30 µg or Aztreonam 30 µg or Cefotaxime 30 µg or Ceftriaxone 30 µg</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 10 µg or Ceftazidime 30 µg or Cefotaxime 30 µg</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent for screening improves the sensitivity of ESBL detection.)</p>	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime 4 µg/mL or Ceftazidime 1 µg/mL or Aztreonam 1 µg/mL or Cefotaxime 1 µg/mL or Ceftriaxone 1 µg/mL</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 1 µg/mL or Ceftazidime 1 µg/mL or Cefotaxime 1 µg/mL</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent for screening improves the sensitivity of ESBL detection.)</p>	<p>Ceftazidime 30 µg Ceftazidime-clavulanic acid^a 30/10 µg</p> <p><u>and</u></p> <p>Cefotaxime 30 µg Cefotaxime-clavulanic acid 30/10 µg</p> <p>(Confirmatory testing requires use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanic acid.)</p>	<p>Ceftazidime 0.25–128 µg/mL Ceftazidime-clavulanic acid 0.25/4–128/4 µg/mL</p> <p><u>and</u></p> <p>Cefotaxime 0.25–64 µg/mL Cefotaxime-clavulanic acid 0.25/4–64/4 µg/mL</p> <p>(Confirmatory testing requires use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanic acid.)</p>
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations
Incubation conditions	35±2°C; ambient air	35±2°C; ambient air	35±2°C; ambient air	35±2°C; ambient air
Incubation length	16–18 hours	16–20 hours	16–18 hours	16–20 hours

Tabla 5. (cont.).

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Results	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime zone ≤17 mm Ceftazidime zone ≤22 mm Aztreonam zone ≤27 mm Cefotaxime zone ≤27 mm Ceftriaxone zone ≤25 mm</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime zone ≤22 mm Ceftazidime zone ≤22 mm Cefotaxime zone ≤27 mm</p> <p>Zones above may indicate ESBL production.</p>	<p>Growth at or above the screening concentrations may indicate ESBL production (ie, for <i>E. coli</i>, <i>K. pneumoniae</i>, and <i>K. oxytoca</i>, MIC ≥8 µg/mL for cefpodoxime or MIC ≥2 µg/mL for ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, or ceftriaxone; and for <i>P. mirabilis</i>, MIC ≥2 µg/mL for cefpodoxime, ceftazidime, or cefotaxime).</p>	<p>A ≥5-mm increase in a zone diameter for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs the zone diameter of the agent when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime zone = 16; ceftazidime-clavulanic acid zone = 21).</p>	<p>A ≥3 twofold concentration decrease in an MIC for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs the MIC of the agent when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime MIC = 8 µg/mL; ceftazidime-clavulanic acid MIC = 1 µg/mL).</p>
Reporting			<p>For all confirmed ESBL-producing strains:</p> <p>If laboratories do not use current cephalosporin and aztreonam interpretive criteria, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam.</p> <p>If laboratories use current cephalosporin and aztreonam interpretive criteria, then test interpretations for these agents do not need to be changed from susceptible to resistant.</p>	

Tabla 5. (cont.).

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
QC recommendations	<p>When testing ESBL-screening antimicrobial agents, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competency, or test evaluation). Either strain, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 or <i>E. coli</i> ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p><i>E. coli</i> ATCC® 25922 (see acceptable QC ranges in Table 3A)</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: Cefpodoxime zone 9–16 mm Ceftazidime zone 10–18 mm Aztreonam zone 9–17 mm Cefotaxime zone 17–25 mm Ceftriaxone zone 16–24 mm</p>	<p>When testing ESBL-screening antimicrobial agents, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competency, or test evaluation). Either strain, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 or <i>E. coli</i> ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p><i>E. coli</i> ATCC® 25922 = No growth (also see acceptable QC ranges listed in Table 4A).</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 = Growth: Cefpodoxime MIC ≥ 8 µg/mL Ceftazidime MIC ≥ 2 µg/mL Aztreonam MIC ≥ 2 µg/mL Cefotaxime MIC ≥ 2 µg/mL Ceftriaxone MIC ≥ 2 µg/mL</p>	<p>When performing the ESBL confirmatory tests, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 and <i>E. coli</i> ATCC® 25922 should be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p>Acceptable QC: <i>E. coli</i> ATCC® 25922: ≤ 2-mm increase in zone diameter for antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs the zone diameter when tested alone.</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: ≥ 5-mm increase in zone diameter of ceftazidime-clavulanic acid vs ceftazidime alone; ≥ 3-mm increase in zone diameter of cefotaxime-clavulanic acid vs cefotaxime alone.</p>	<p>When performing the ESBL confirmatory tests, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 and <i>E. coli</i> ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily).</p> <p>Acceptable QC: <i>E. coli</i> ATCC® 25922: < 3 twofold concentration decrease in MIC for antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs the MIC of the agent when tested alone.</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: ≥ 3 twofold concentration decrease in MIC for an antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs the MIC of the agent when tested alone.</p>

Fuente: (CLSI, 2013).

2.5 HIPÓTESIS

El uso del método de comparación visual para la preparación del inóculo bacteriano influye en la susceptibilidad del antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos.

2.6 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES

2.6.1 Variable independiente: Métodos para medir la turbidez de los inóculos

2.6.2 Variable dependiente: Antibiograma

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

Para realizar este trabajo de investigación, se utilizó un enfoque cualitativo porque se analizó en lo que concierne a exámenes de laboratorio los halos de inhibición de los antibiogramas realizados con los métodos utilizados, los mismos que se efectuaron con la finalidad de adquirir datos estadísticos para observar cuál de los métodos es el que menos variabilidad presenta y realizar una propuesta que ayude a emplear el mejor método el cual permitirá mejorar la entrega de resultados confiables.

Durante la realización se utilizó técnicas microbiológicas, así como también se basó en la recopilación de información a través de la observación y encuestas para saber cuáles son los métodos de predominante utilización y factores que influyen en la inadecuada susceptibilidad bacteriana, con el propósito de obtener un registro de datos.

3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL DE LABORATORIO

Se utilizó esta modalidad de investigación ya que mediante la utilización de técnicas microbiológicas se puso en la práctica la variable independiente al

emplear los métodos utilizados para preparar el inóculo microbiológico, para de esta forma observar el efecto producido en la variable dependiente es decir en el antibiograma, precisando de esta forma la causa-efecto.

3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación es exploratoria porque se enfocó en un problema poco investigado y de gran importancia hoy en día, para conocer más a fondo la realidad de las pruebas microbiológicas y formular una propuesta en beneficio de los laboratorios y pacientes.

Es descriptivo porque se tendrá una medición precisa de lo que sucede al utilizar los distintos métodos para preparar el inóculo, además se recogerá información que ayudará a caracterizar la problemática de la investigación.

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

El presente trabajo se estableció con 40 muestras microbiológicas que llegaron al Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente Ambato.

3.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cepas bacterianas correctamente identificadas como *E. coli* procedentes de urocultivos de pacientes de ambos sexos.
- Periodo de Octubre 2014 – Febrero 2015

3.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Muestras procedentes de pacientes con antibioticoterapia
- Cepas no identificadas correctamente.

3.4.3 PRINCIPIOS ÉTICOS

Absoluta confidencialidad con los datos recolectados de cada paciente, teniendo presente su nominación según el código asignado para el procesamiento de muestras.

3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.5.1 VARIABLE INDEPENDIENTE: Métodos para medir la turbidez de los inóculos.

Tabla 6. Métodos para medir la turbidez de los inóculos.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Los métodos para medir la turbidez de los inóculos, son el conjunto de pasos a seguir para medir la concentración bacteriana de un inóculo, a utilizarse en el antibiograma.	Métodos Espectrométricos Turbidimetría Métodos para medir la turbidez de los inóculos	Concentración bacteriana adecuada Concentración o turbidez de la escala McFarland	¿Qué métodos se utilizan para medir la turbidez? ¿Cuál es la concentración bacteriana utilizada en el antibiograma? ¿Cómo influye la concentración bacteriana del inóculo en el antibiograma?	Observación de Laboratorio Experimentación de Laboratorio	Hojas de registro Cuaderno de notas Equipos y materiales de laboratorio

Elaborado por: Freddy Ulloa

3.5.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Tabla 7. Antibiograma.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
El antibiograma el método de mayor elección para medir la sensibilidad o resistencia bacterianas in vitro de determinado antimicrobiano en un laboratorio.	Técnicas bacteriológicas Pruebas de Susceptibilidad antimicrobiana Antibiograma	Sensibilidad Resistencia	¿Qué norma se utiliza para medir la sensibilidad o resistencia? ¿Cuál es el método utilizado para determinar la sensibilidad o resistencia?	Observación de Laboratorio Experimentación de Laboratorio	Hojas de registro Equipos y materiales de laboratorio

Elaborado por: Freddy Ulloa

3.6 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para la ejecución de esta investigación se utilizó un registro específico para los resultados de laboratorio y otro para las encuestas realizadas.

- Reconocimiento de los principales laboratorios clínicos microbiológicos de la ciudad.
- Realización de una encuesta con fines investigativos.
- Recolección de las muestras microbiológicas previa selección para su posterior procesamiento, análisis e interpretación.
- Revisión crítica de la información recogida, lo que comprende, limpieza de la información defectuosa, contradictoria, incompleta, no pertinente, etc.
- Tabulación de cuadros según variables.
- Manejo de información.
- Estudio de datos para presentación de resultados.

La recolección de la información se realizó de acuerdo al plan y enfoque establecido señalado en la matriz:

Tabla 8. Procedimientos para la recolección de información.

PREGUNTAS BÁSICAS	INVESTIGACIÓN
1.- ¿Para qué?	Para determinar cómo los métodos para medir la turbidez de los inóculos influyen en el antibiograma.
2.- ¿De qué persona u objeto?	Cepas bacterianas de <i>E. coli</i> procedente de urocultivos que se procesan en el Hospital Regional Docente Ambato.
3.- ¿Sobre qué aspectos?	Métodos para medir la turbidez de los inóculos
4.- ¿Quién?	El investigador: Freddy Ulloa
5.- ¿A Quiénes?	A 40 pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico del HRDA
6.- ¿Cuándo?	Durante Octubre 2014 – Febrero 2015
7.- ¿Dónde?	Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente Ambato
8.- ¿Cuántas veces?	Durante el periodo establecido para el análisis de Laboratorio
9.- ¿Qué técnica de recolección?	Técnicas Microbiológicas
10.- ¿Con qué?	Informes , registro de resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

3.7 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.7.1 Materiales, equipos y reactivos

Insumos

Mandil

Mascarilla

Guantes quirúrgicos

Gorro

Gafas

Desinfectante

Registro de resultados

Materiales de oficina

Materiales

Asa bacteriológica

Hisopos estériles

Mechero de Bunsen

Gradilla

Tubos de ensayo

Placas preparadas con Agares diferenciales

Pruebas de identificación bioquímica

Placas preparadas de Agar Mueller Hinton

Equipos

Estufas bacteriológica

Autoclave

Turbidímetro

Reactivos

Solución salina estéril

Agua destilada

Escala 0,5 de McFarland de origen comercial

3.7.2 Procedimiento

Luego de haber aislados cepas puras de *E. coli* de origen urinario, y de que el equipo turbidimétrico cumpla con los criterios en el diseño óptico (véase Tabla 2.), así como que el área de trabajo este correctamente limpia, y encendido el mechero de Bunsen, se siguió con el siguiente esquema de procesamiento.

3.7.2.1 Esquema para el procesamiento del antibiograma

Primeramente se colocó 3 ml de solución salina en dos tubos de ensayo respectivamente, se rotuló como blanco y muestra.

Se procede a colocar el blanco y se lee la absorbancia del tubo de la muestra, esta nos da una absorbancia de 0,00, pasando así el primer control.

Después se lee la absorbancia del tubo de la escala 0,5 de McFarland, esta nos da una absorbancia entre un rango de 0,08 a 0,10 pasando así el segundo control.

Se anotó las absorbancias de blanco y escala por cada corrida efectuada.

Seguidamente se tomó de una a dos colonias bacterianas con un hisopo estéril y se suspendió en el tubo de ensayo de la muestra, y se procedió a leer la absorbancia ajustando esta con solución salina hasta ubicarla entre el rango aceptable de 0,08 a 0,10.

A continuación de esto se procedió a realizar el estriamiento con la ayuda de otro hisopo en la caja con agar Mueller Hinton.

Se colocó los discos antimicrobianos establecidos para la investigación

Se llevó a la estufa bacteriológica por 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$

Finalmente se procede a la medición de los halos de inhibición, registro e interpretación de estos.

Una vez obtenido e interpretado todos los resultados de las 40 muestras microbiológicas procesadas de pacientes que fueron seleccionados se procedió a realizar una revisión crítica de los datos obtenidos que fueron registrados.

Se realizó la organización de los datos obtenidos en categorías señalando los indicadores necesarios para dar una visión detallada del estudio, y posteriormente se procedió a la tabulación de la información.

Luego se representó en tablas, gráficos de barras para una mejor comprensión de los resultados.

Posteriormente se realizó el análisis de los resultados estadísticos de cada uno de los indicadores, destacando tendencias, prevalencias de acuerdo con los objetivos propuestos, además dando una interpretación a cada uno de los indicadores en estudio.

Finalmente para dar el análisis e interpretación de resultados dando a conocer el significado de los mismos en relación de la hipótesis para comprobarla o rechazarla.

Control de calidad

Para asegurar que el equipo se encontraba en perfecto estado durante la investigación se realizó el procedimiento explicado anteriormente Se procede a colocar el blanco y se lee la absorbancia del tubo de la muestra, esta nos da una

absorbancia de 0,00, pasando así el primer control. Después se lee la absorbancia del tubo de la escala 0,5 de McFarland, esta nos da una absorbancia entre un rango de 0,08 a 0,10 pasando así el segundo control. Se anotó las absorbancias de blanco y escala por cada corrida efectuada en un registro correspondiente.

Reproducibilidad

Se aseguró la reproducibilidad de las lecturas mediante la medición de la escala 0,5 de McFarland por cada día en el que se utilizó el equipo turbidimétrico.

Características del equipo

Para la presente investigación se utilizó un equipo turbidímetro MicroScan marca Siemens, el cual tiene por objeto medir la turbidez de un líquido mediante la lectura de absorbancia.

Resumen y principios

El medidor de turbidez es un fotómetro de filtrado de uso general, que proporciona una comparación directa inmediata de la absorbancia óptica de dos muestras de líquido por medio de una lectura digital. El medidor está prefijado para una longitud de onda específica.

Especificaciones técnicas

Estilo de la cubeta:

16 x 80 mm o 12 x 83 mm

Volumen mínimo:

Tubo de 2,0 ml por 16 x 80 mm

Tubo de 1,3 por 12 x 83 mm

Pantalla:

LCD de tres dígitos

Intervalo de absorbancia:

0 - 1,99 DO

Linealidad:

Dentro del 1% 0 0,01 DO, lo que sea mayor

Sensibilidad:

0,01 DO

Alimentación eléctrica:

Paquete de batería recargable y sustituible por el usuario que proporciona 500 lecturas con cada recarga

Cargador:

Externo instalado en el muro 115 VAC, 50/60Hz. o 100, 220, 240 VAC, 50/60 Hz.

Tiempo de recarga:

De 8 a 10 horas para una carga total si está totalmente descargado

Intervalo de temperatura ambiente:

Funcionamiento: 10°C a 40°C

Almacenamiento: -20°C a 66°C

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Sobre la base de datos recogidos y procesados, se realiza el análisis e interpretación de resultados, de acuerdo con los objetivos y el marco teórico. Se concluye el capítulo con la verificación de hipótesis

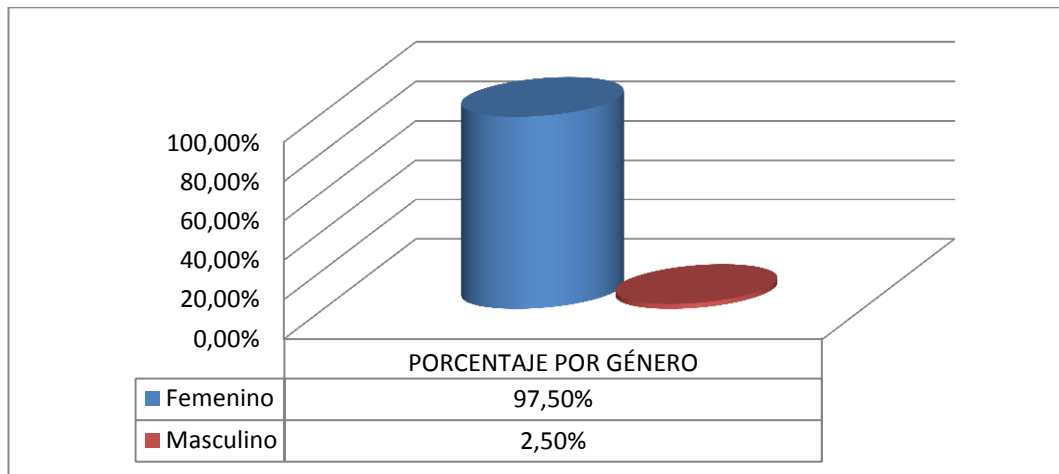
4.1. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

4.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

4.1.1.1 GÉNERO

Durante el periodo de Octubre 2014 – Febrero 2015 se obtuvo un total 40 muestras que reunían los criterios de inclusión, es decir: que sean procedentes de urocultivos obtenidas de pacientes de ambos sexos que hayan presentado cuadros de infección de vías urinarias por *E. coli*.

Gráfico 26. Porcentaje de los pacientes de acuerdo al género de los que procedieron las muestras de orina.



Fuente: Registro de resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

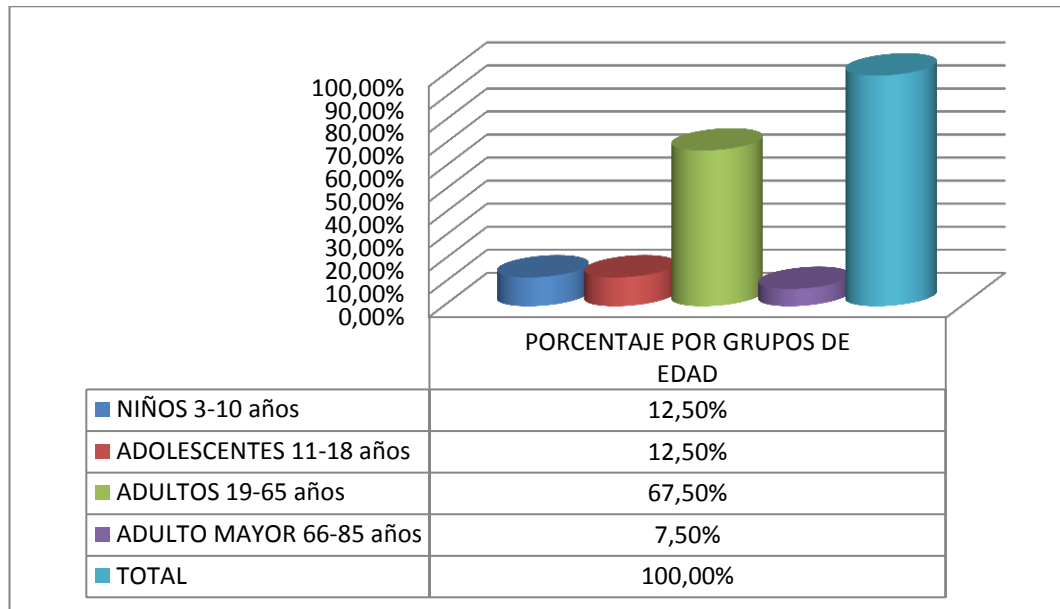
En el gráfico 26 se puede observar que el 97,5% corresponde al género femenino y el 2,5% corresponde al género masculino.

Interpretación:

Se deduce que la población de género femenino es la que presentó mayor predominancia.

4.1.1.2 EDAD

Gráfico 27. Distribución de la población por grupos de edad.



Fuente: Registro de resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

En el gráfico 27 observamos que un 12,5% corresponde a niños de 3-10 años, un 12,5% a adolescentes de 11-18 años, un 67,5% a adultos de 19-65 años, un 7,5% a adultos mayores entre 66 y 85 años.

Interpretación:

Se puede observar que la población adulta de 19 a 65 años es predominante en la investigación.

**ANÁLISIS DE LAS VARIACIONES PRESENTADAS EN LA
SUSCEPTIBILIDAD DEL ANTIBIOGRAMA TOMANDO COMO
REFERENCIA EL USO DE TURBIDÍMETRO**

MÉTODOS UTILIZADOS:

Turbidimétrico

Comparación visual con escala 0,5 McFarland

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS

Antibióticos del Grupo U según CLSI M100-S23, Enero 2013. Para familia *Enterobacteriaceae*. (CLSI, 2013).

Cefalotina (KF)

Ofloxacina (OFX)

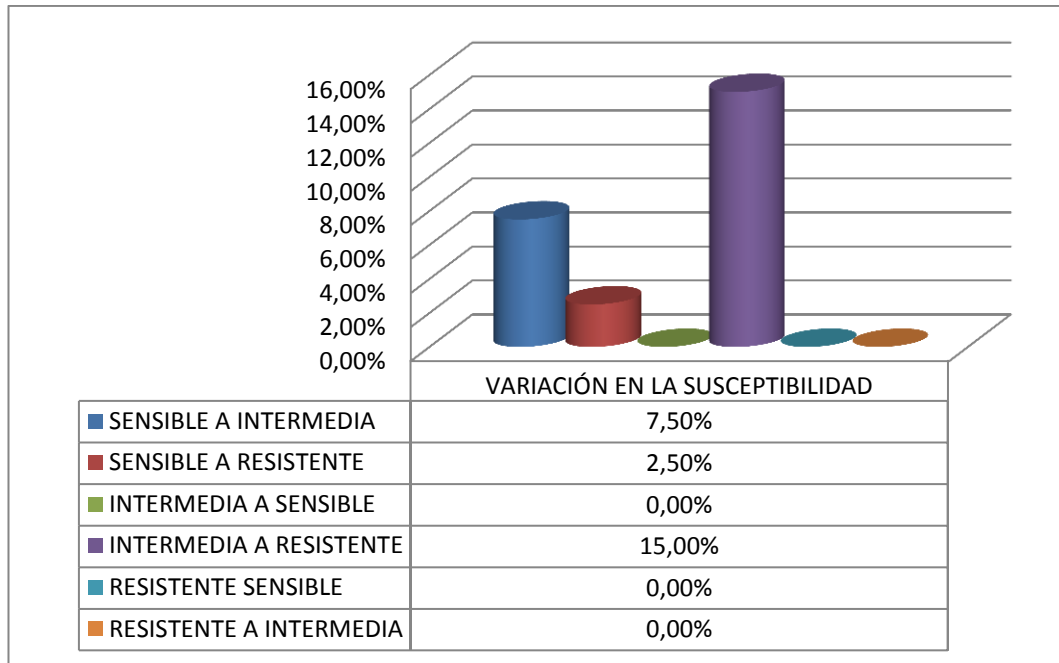
Norfloxacina (NOR)

Nitrofurantoína (F)

Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT)

Cefalotina (KF)

Gráfico 28. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para el antibiótico Cefalotina mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

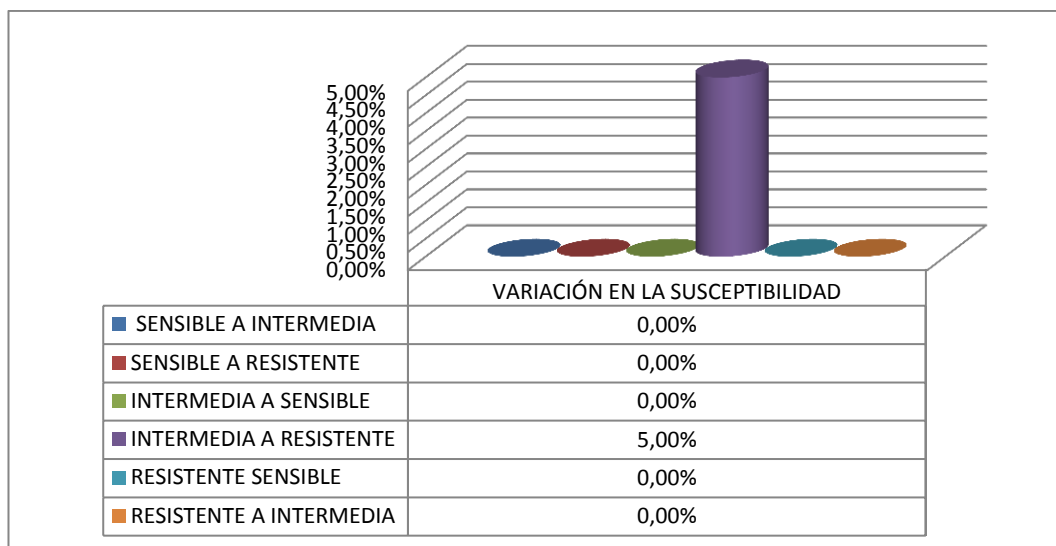
En el gráfico 28 observamos que un 7,5% presentó una variación de sensible a intermedia, un 2,5% presentó una variación de sensible a resistente, un 0,0% presentó una variación de intermedia a sensible, un 15% presentó una variación de intermedia a resistente, un 0,0% presentó una variación de resistente a sensible, un 0,0% presentó una variación de resistente a intermedia, sumando un total de 25,0% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de intermedia a resistente es predominante para el antibiótico Cefalotina.

Ofloxacina (OFX)

Gráfico 29. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para el antibiótico Ofloxacina mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

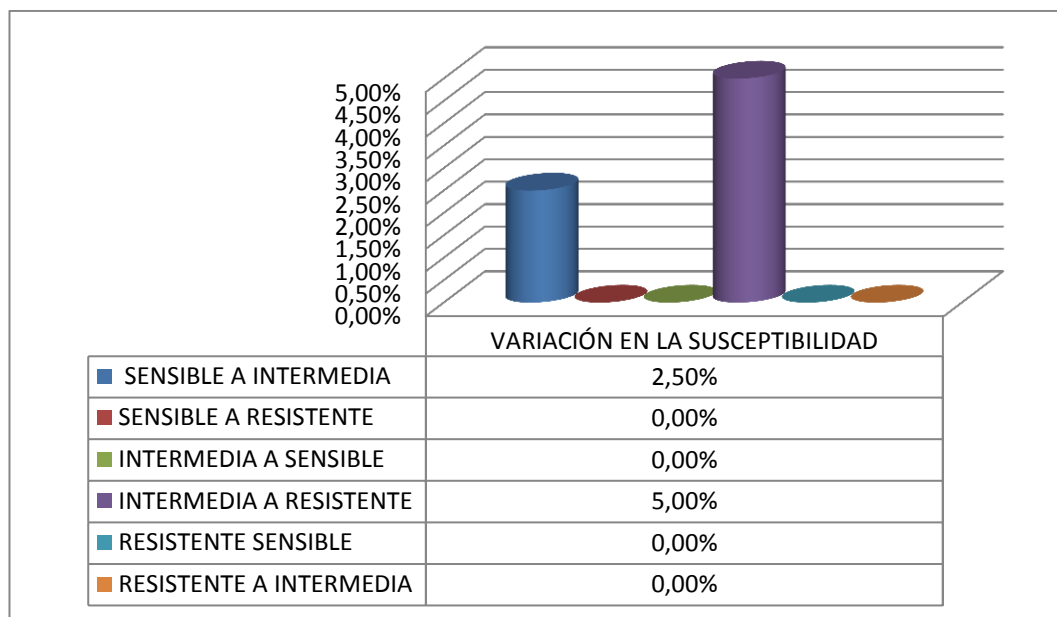
En el gráfico 29 observamos que un 0,0% presentó una variación de sensible a intermedia, un 0,0% presentó una variación de sensible a resistente, un 0,0% presentó una variación de intermedia a sensible, un 5,0% presentó una variación de intermedia a resistente, un 0,0% presentó una variación de resistente a sensible, un 0,0% presentó una variación de resistente a intermedia, sumando un total de 5,0% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de intermedia a resistente es predominante para el antibiótico Ofloxacina.

Norfloxacin (NOR)

Gráfico 30. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para el antibiótico Norfloxacin mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

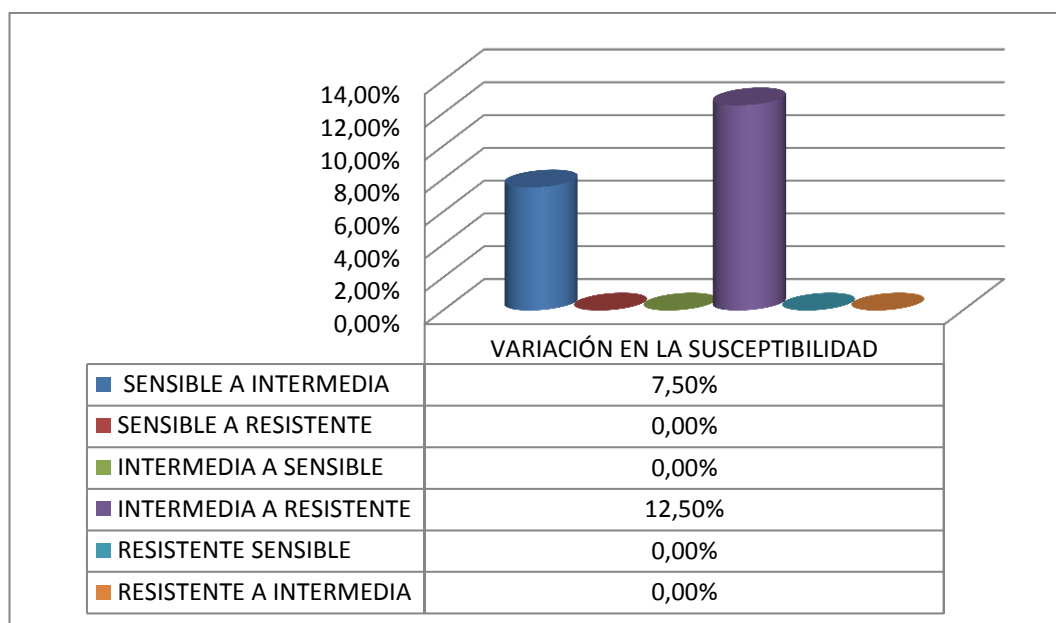
En el gráfico 30 observamos que un 2,5% presentó una variación de sensible a intermedia, un 0,0% presentó una variación de sensible a resistente, un 0,0% presentó una variación de intermedia a sensible, un 5,0% presentó una variación de intermedia a resistente, un 0,0% presentó una variación de resistente a sensible, un 0,0% presentó una variación de resistente a intermedia, sumando un total de 7,5% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de intermedia a resistente es predominante para el antibiótico Norfloxacin.

NITROFURANTOÍNA (F)

Gráfico 31. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para el antibiótico Nitrofurantoína mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

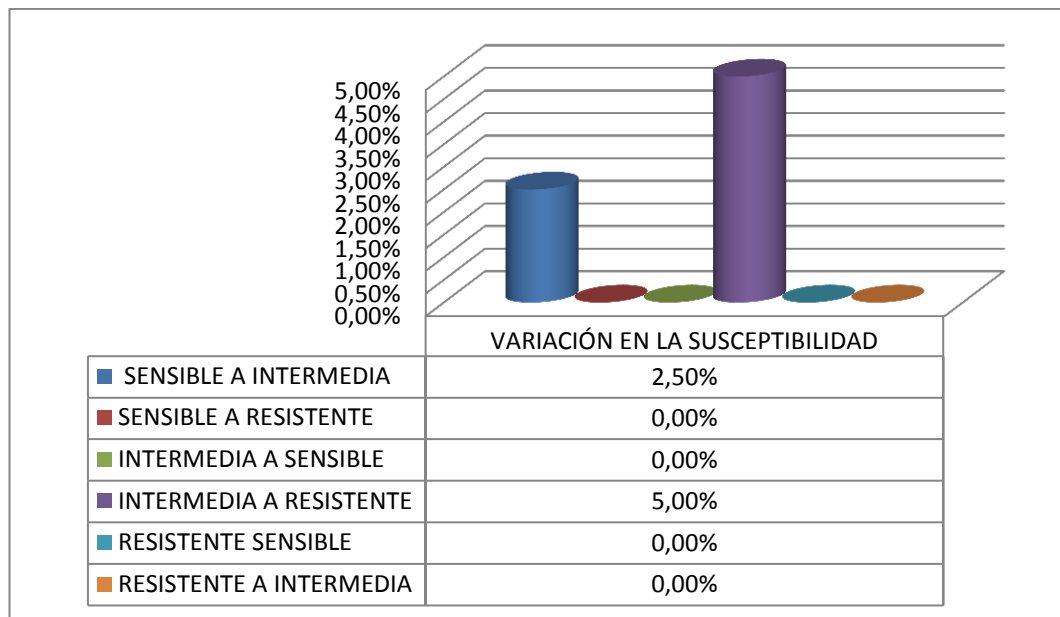
En el gráfico 31 observamos que un 7,5% presentó una variación de sensible a intermedia, un 0,0% presentó una variación de sensible a resistente, un 0,0% presentó una variación de intermedia a sensible, un 12,5% presentó una variación de intermedia a resistente, un 0,0% presentó una variación de resistente a sensible, un 0,0% presentó una variación de resistente a intermedia, sumando un total de 20,0% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de intermedia a resistente es predominante para el antibiótico Nitrofurantoína.

TRIMETOPRIMA/SULFAMETOXAZOL (SXT)

Gráfico 32. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para el antibiótico SXT mediante la preparación del inóculo con comparación visual en contraste con la utilización de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

En el gráfico 32 observamos que un 2,5% presentó una variación de sensible a intermedia, un 0,0% presentó una variación de sensible a resistente, un 0,0% presentó una variación de intermedia a sensible, un 5,0% presentó una variación de intermedia a resistente, un 0,0% presentó una variación de resistente a sensible, un 0,0% presentó una variación de resistente a intermedia, sumando un total de 7,5% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de intermedia a resistente es predominante para el antibiótico SXT.

4.2. Verificación de la Hipótesis

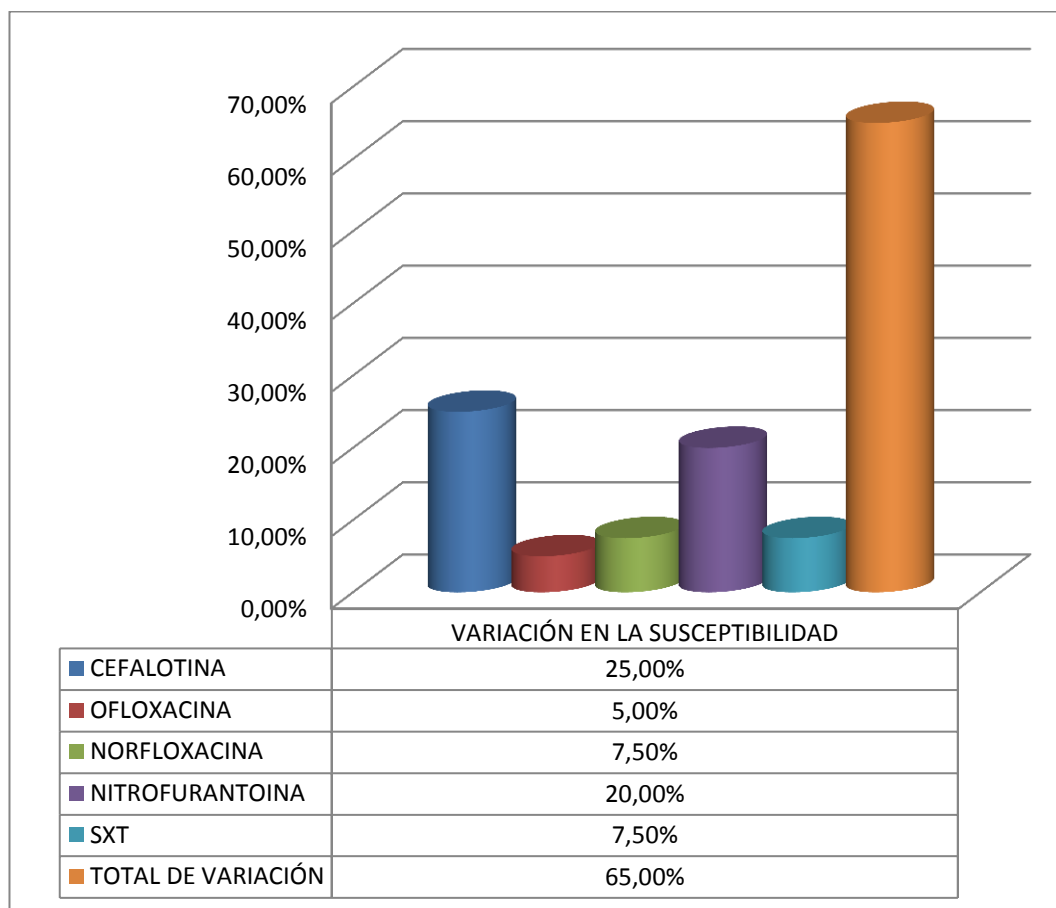
Hipótesis Alterna (H1): El uso del método de comparación visual para la preparación del inóculo bacteriano influye en la susceptibilidad del antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos.

Hipótesis Nula (H0): El uso del método de comparación visual para la preparación del inóculo bacteriano no influye en la susceptibilidad del antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos.

COMPROBACIÓN ESTADÍSTICA DE HIPÓTESIS

En esta investigación se realizó antibiogramas de la bacteria *E. coli*, usando inóculos preparados mediante el método de comparación visual el cual se comparó con el método turbidimétrico, obteniendo resultados los cuales fueron los diámetros de inhibición, estos se compararon mediante tablas y gráficos para su posterior interpretación.

Gráfico 33. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria para los antibióticos CEFALOTINA, Ofloxacina, Norfloxacina, Nitrofurantoína y Trimetoprima/Sulfametoxazol.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

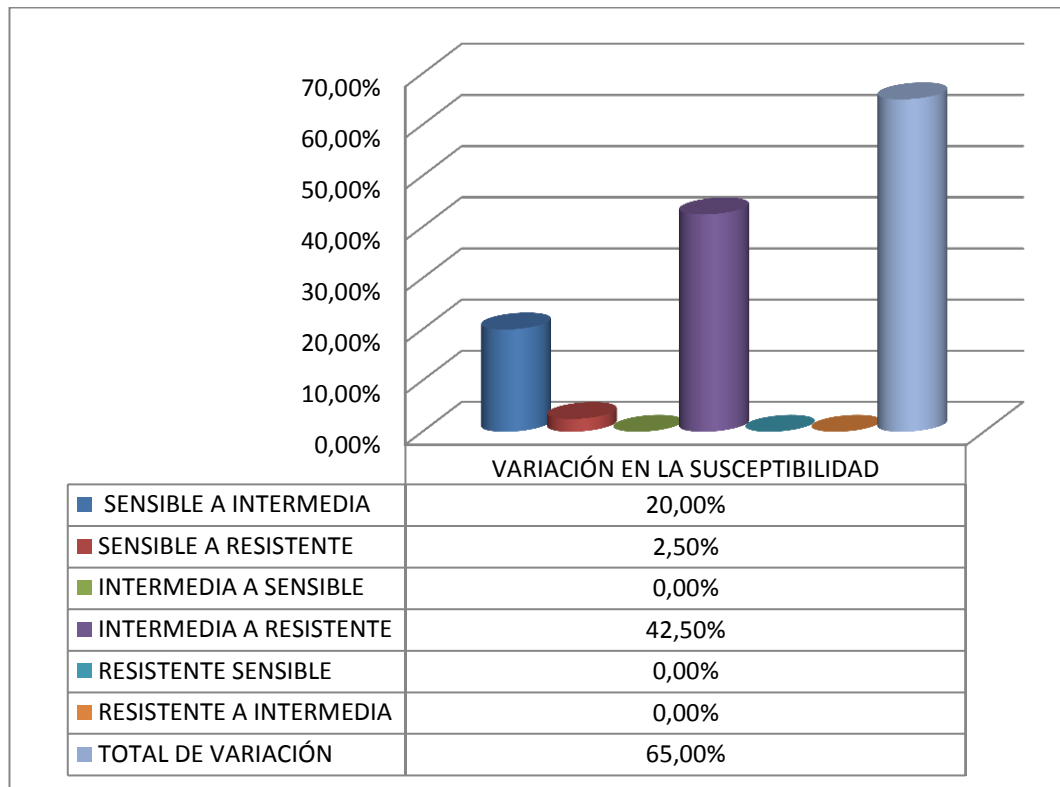
Análisis:

En el gráfico 33 observamos que para Cefalotina se presentó un 25,0%, 5,0% para Ofloxacina, 7,5% para Norfloxacina, 20,0% para Nitrofurantoína, 7,5% para SXT, sumando un total de 65,0% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación del antibiótico Cefalotina fue predominante en la investigación.

Gráfico 34. Variaciones de susceptibilidad presentadas en el antibiograma de la bacteria *E. coli* de procedencia urinaria, utilizando la comparación visual en contraste con el uso de turbidímetro.



Fuente: Registro de Resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

Análisis:

En el gráfico 34 observamos que hubo una variación en la susceptibilidad en un 20,0% de sensible a intermedia, un 2,5% de sensible a resistente, un 0,0% de intermedia a sensible, un 42,5% de intermedia a resistente, un 0,0% de resistente a sensible, un 0,0% de resistente a intermedia, sumando un total de 65,0% de variaciones.

Interpretación:

Se puede observar que la variación de Intermedia a resistente fue predominante en la investigación.

RESULTADOS DE COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Tras la comparación del método de comparación visual frente al uso de turbidímetro se pudo observar el porcentaje de variaciones presentadas por antibiótico teniendo así a Cefalotina con un 25,0%, Ofloxacin con un 5,0%, Norfloxacin con un 7,5%, Nitrofurantoína con un 20,0%, SXT con un 7,5%, sumando un total de 65,0% de variaciones. Siendo Cefalotina el antibiótico con predominante variación de susceptibilidad en la investigación.

En cuanto al porcentaje de variación en la susceptibilidad tenemos un 20,0% de sensible a intermedia, un 2,5% de sensible a resistente, un 0,0% de intermedia a sensible, un 42,5% de intermedia a resistente, un 0,0% de resistente a sensible, un 0,0% de resistente a intermedia, siendo la variación de intermedia a resistente predominante en la investigación.

La variación de susceptibilidad de intermedia a resistente fue predominante en todos los antibióticos usados en la investigación presentándose así para el antibiótico Cefalotina un 15,0%, para Ofloxacin un 5,0%, para Norfloxacin un 5,0%, para Nitrofurantoína un 12,5%, para SXT un 5,0%, siendo Cefalotina el antibiótico que más variación presentó de intermedia a resistente.

El porcentaje de variación en la susceptibilidad utilizando la comparación visual, frente al uso de turbidímetro fue de un total de 65,0%, demostrando así la comprobación de la hipótesis, rechazando la hipótesis nula, al evidenciar que el uso del método de comparación visual para la preparación del inóculo bacteriano influye en la susceptibilidad del antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Al concluir el estudio de investigación sobre los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos en el antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos

Se evaluó cómo los métodos para medir la turbidez de los inóculos influyen en el antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos reflejándose en el porcentaje de variación en la susceptibilidad presentada utilizando la comparación visual frente al uso del turbidímetro obteniendo así una variación del 20,0% de sensible a intermedia, un 2,5% de sensible a resistente, un 0,0% de intermedia a sensible, un 42,5% de intermedia a resistente, un 0,0% de resistente a sensible, un 0,0% de resistente a intermedia, sumando un significativo porcentaje de 65,0% de variaciones, demostrando que la comparación visual presenta un porcentaje de variación considerable en relación con el uso de turbidímetro.

Se definió los métodos utilizados para medir la turbidez de los inóculos siendo dos los que se utilizan principalmente, la comparación visual y el uso de turbidímetro.

Para la Medición de la Turbidez con Comparación Visual, se toma el tubo de origen comercial o preparado de escala McFarland equivalente a 0,5 es decir con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, se procede a agitar el tubo en un vórtex, con luz adecuada se compara la turbidez con el inóculo o suspensión

bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, se recomienda sostener los tubos contra un fondo blanco con líneas negras horizontales para contraste, se ajusta la turbidez del inóculo con suero fisiológico en caso de que este sobrepase la escala.

En la Medición de la Turbidez con Turbidímetro, se mide la turbidez del inóculo o suspensión bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, por medio de un equipo turbidimétrico. Para este se debe primero encerrar el equipo con agua destilada, posteriormente leemos la turbidez de un patrón con escala conocida de origen comercial, con fines de control de calidad y posteriormente se procede a leer las suspensiones bacterianas realizadas ajustando la turbidez hasta tener el valor esperado.

Se comparó el margen de error del método de comparación visual frente al uso de turbidímetro para medir la turbidez de los inóculos obteniendo un porcentaje de variación en la susceptibilidad de 65,0%, demostrando así que el uso del método de comparación visual para la preparación del inóculo bacteriano influye en la susceptibilidad del antibiograma de la bacteria *E. coli* en urocultivos.

5.2 Recomendaciones

Después de realizada la investigación podemos dar las siguientes recomendaciones para evitar problemas en la susceptibilidad antimicrobiana ya sea por desconocimiento o por falta de preocupación por parte del personal de laboratorio que realiza este tipo de procedimientos microbiológicos, luego de contar absolutamente con todas las normas de bioseguridad, así como el área adecuada se exponen los siguientes aspectos.

Realizar una toma adecuada de la muestra, este aspecto es importante para poder realizar un correcto aislamiento e identificación bacteriana, un aislamiento

incorrecto genera muchos problemas al momento de realizar el antibiograma como es una falsa susceptibilidad para un microorganismo incorrecto.

Garantizar que los materiales usados sean totalmente estériles, así como los medios de cultivo y demás insumos utilizados.

Los equipos y materiales garantizaran un correcto procesamiento de las muestras, siendo punto de interés en esta investigación el uso de un equipo turbidimétrico o similar que nos permita estandarizar la turbidez del inóculo, así como tener la escala 0,5 de McFarland para control del equipo.

Se recomienda llevar control de temperatura de los equipos implicados en esta área como son:

El refrigerador, para garantizar la conservación de medios de cultivo preparados así como reactivos que necesitan estas condiciones para mantener su estabilidad.

La estufa bacteriológica, para mantener las condiciones ideales de crecimiento bacteriano, la cual aparte de contar con termostato con control automático de temperatura debe llevar un termómetro externo para control de este.

Equipos de esterilización, cabe añadir estos equipos a esta lista para de esta formar mantener los parámetros que garanticen una correcta esterilización de un 99,99 por ciento, siendo principalmente estos el tiempo, presión y temperatura.

Cabe añadir que dentro de lo posible sería un gran punto contar con cepas ATCC que nos permitan llevar un control de calidad en los cultivos que se realizan a diario en los laboratorios de microbiología, ya sea este de origen interno o externo.

Así como también contar con manuales, normativas, procedimientos, registros, que nos garantice que todos los procesos realizados dentro de esta área sean

realizados de una forma correcta y acertada, para de esta forma contribuir a la conservación de la salud de las personas en la lucha diaria en contra de las infecciones bacterianas.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS

6.1.1 Título

Plan de difusión del método turbidimétrico para la preparación de los inóculos usados en el antibiograma

6.1.2 Ejecutor

Investigador Freddy Ulloa

6.1.3 Beneficiarios

Laboratorios Clínicos Microbiológicos, y pacientes que acuden a estos en la ciudad de Ambato

6.1.4 Ubicación

Ciudad de Ambato de Tungurahua

6.1.5 Tiempo Estimado para la Ejecución

Inicio: 1 de Marzo de 2015

Final: 1 de Junio de 2015

6.1.6 Equipo Técnico Responsable

Investigador Freddy Ulloa

6.1.7 Costo

1600 dólares americanos.

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Gallegos, F., menciona en su investigación que los laboratorios deberán disponer de los aparatos e instrumental necesario para el correcto desarrollo de su actividad., y también debe existir un procedimiento de control de calidad en el laboratorio de Microbiología Clínica que implique la monitorización de los medios e instrumentos, con el fin de asegurar la adecuada realización de los aislamientos, identificación y caracterización de los patógenos y la realización precisa de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos como referencia terapéutica. Los equipos del laboratorio deben funcionar de forma que se asegure la reproducibilidad de los resultados de las pruebas diagnósticas. (Gallegos, 2014).

Mediante la presente investigación se evidencio que la variación que puede presentar el uso inadecuado de un solo método en el área de microbiología ocasiona una significativa variación en la susceptibilidad del antibiograma, así como también que existen laboratorios que no aplican correctamente este y varias técnicas microbiológicas. En el análisis de resultados se obtuvo una variación del 65% en la susceptibilidad lo cual es significativo tomando en consideración que se utilizó un método alternativo recomendado en caso de que no exista un equipo turbidimétrico para la medición del inóculo, para lo cual se deberían ejecutar medidas de cambio en este aspecto, ya que un número significativo no posee la escala de McFarland, así como tampoco realiza una lectura turbidimetría del inóculo.

Se comprobó que el porcentaje de variación en la susceptibilidad fue de un 20,0% de sensible a intermedia, un 2,5% de sensible a resistente, un 0,0% de intermedia a sensible, un 42,5% de intermedia a resistente, un 0,0% de resistente a sensible, un 0,0% de resistente a intermedia, sumando un total de 65,0% de variaciones, siendo la variación de intermedia a resistente predominante en la investigación.

Demostrando el reporte emitido no es el correcto, cuando este debe de ser preciso, exacto y confiable, en lo que a nuestras posibilidades este, para de esta forma brindar una correcta orientación al médico tratante.

Existe un déficit de control en el área de microbiología, en cuanto a la aplicación de normas y estándares que se debe seguir para un correcto procesamiento, lo cual sin lugar a dudas ocasiona daños en la integridad del paciente al suministrar un tratamiento incorrecto así como fomenta la aparición de resistencias bacterianas, lo cual es un tema muy delicado y potencialmente epidémico y es razón válida para cuidar cada uno de los detalles en el laborar diario en los laboratorios.

6.3 JUSTIFICACIÓN

Luego de realizar esta investigación se puede evidenciar la gran deficiencia que existe en el área de microbiología en la ciudad de Ambato, por lo cual es urgente implementar medidas que permitan garantizar que todos los procesos que se realizan en esta área sean confiables y oportunos.

Al constatar la deficiencia de un equipo turbidimétrico para la medición del inóculo se pudo verificar que existen muchos problemas más que giran en torno a esta área por lo cual es importante una regulación continua para este problema.

Es muy importante que conjuntamente con las autoridades reguladoras como lo es el Ministerio de Salud, formar un equipo que permita llegar a los lugares donde se realiza este tipo de procedimientos y poder difundir este aspecto que tiene poca consideración en la actualidad y de esta forma mejorar el tipo de servicio que estamos brindando a la comunidad.

Los beneficiarios de esta investigación será la población que se acerca a una casa de salud en busca de ayuda, y demostrar que podemos mejorar en nuestro trabajo para dar una mejor calidad en su salud en la lucha contra las enfermedades.

6.4 OBJETIVOS

6.4.1 Objetivo General

Fomentar la utilización del método turbidimétrico para la preparación de los inóculos usados en el antibiograma

6.4.2 Objetivos Específicos

Diseñar de un plan de acción para conocimiento

Difundir la utilización del método turbidimétrico para la preparación de los inóculos usados en el antibiograma

6.5 FACTIBILIDAD

La investigación es factible ya que se cuenta con la ayuda de los organismos encargados de regular el adecuado funcionamiento de los laboratorios y de esta forma llegar a ellos, así como garantizar que se cumpla día a día cada uno de los procesos realizados en esta área. Al tener la apertura a estos lugares podremos difundir la importancia de aplicar métodos estandarizados, dejando en desuso técnicas que lastimosamente aún se están usando en la ciudad de Ambato y que están afectando significativamente a la población de la ciudad.

6.6 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

Métodos para Medir la Turbidez de los Inóculos

Para medir la turbidez se utiliza actualmente instrumentos como son los turbidímetros o nefelómetros, que emplean un método cuantitativo y deben cumplir los siguientes criterios en el diseño óptico:

La longitud de onda de la radiación incidente debe ser de 860 nm. La fuente de luz puede ser lámpara de tungsteno; diodos (leds) o laser.

El ancho de banda espectral debe ser menor o igual a 60 nm.

La convergencia de la radiación incidente no debe exceder $\pm 1,5^\circ$ en turbidímetros de radiación difusa y $\pm 2,5^\circ$ en turbidímetros de radiación atenuada.

El ángulo de medición entre la radiación incidente y la radiación difusa debe ser de $90^\circ \pm 2,5^\circ$ en turbidímetros de radiación difusa y atenuada.

La distancia recorrida por la luz incidente y dispersa dentro del tubo de muestra, no debe exceder 10 cm.

Los turbidímetros o nefelómetros deben estar diseñados con niveles muy pequeños de luz extraviada, con el objeto de no tener una deriva significativa en el periodo de estabilización del instrumento, y también para que no interfieran en mediciones de turbidez de baja concentración. La nefelometría se basa en la medición de radiación dispersa, en cambio la turbidimetría en la medición de la intensidad de un haz disminuido. (Soriano, 2010).

En microbiología uno de los parámetros preponderantes en el antibiograma es la medición de la turbidez del inóculo bacteriano. Para medir la turbidez primero debemos partir de la preparación del inóculo, existen principalmente dos formas:

Preparación del Inóculo en Medio de Cultivo Líquido

Para esto se procede a coger de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y sembrarlas en 5 ml de un medio líquido (Brain-Heart, Todd Hewitt, Tripticasa soja, etc.) e incubar en la estufa a 35°C durante 2 a 6 horas hasta conseguir o superar una turbidez del 0.5 de la escala de McFarland. Si la turbidez es superior se realiza el ajuste necesario con suero salino estéril.

Preparación de Inóculo con Suspensión Directa de Colonias

A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas coger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland en suero fisiológico. Agitar en un vórtex durante 15-20 segundos. Se recomienda utilizar el primer método si el cultivo tiene más de 24 horas de incubación.

El segundo método es el más adecuado para microorganismos de crecimiento difícil en medios líquidos (*Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, estreptococos no enterococos, *Listeria*, *Moraxella* y *Corynebacterium* spp.) y para estafilococos en los que se quiera detectar la resistencia a oxacilina (Quiroz, 2013).

En ambos métodos de preparación del inóculo se suele utilizar la comparación visual y la medición en un turbidímetro, como métodos para medir la turbidez.

Medición de la Turbidez con Comparación Visual

Para este método vamos a coger el tubo de origen comercial o preparado de escala McFarland equivalente a 0,5 es decir con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, vamos a proceder a agitar el tubo en un vórtex, con luz adecuada se compara la turbidez con el inóculo o suspensión bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, se recomienda sostener los tubos contra un fondo blanco con líneas negras horizontales de contraste, se ajustará la turbidez del inóculo con suero fisiológico en caso de que este sobrepase la escala.

Medición de la Turbidez con Turbidímetro

En este método se va a medir la turbidez del inóculo o suspensión bacteriana ya sea del medio de cultivo líquido o en suero fisiológico, por medio de un equipo turbidimétrico, el cual debe de cumplir con los requerimientos expuestos anteriormente.

Para este se debe primero encerrar el equipo con agua destilada, posteriormente leemos la turbidez de un patrón con escala conocida de origen comercial, con fines de control de calidad y posteriormente se procede a leer las suspensiones bacterianas realizadas ajustando la turbidez hasta tener el valor esperado.

6.7 ADMINISTRACIÓN DE LA PROPUESTA

Estará a cargo del investigador para que se cumpla cada uno de los aspectos fijados en la presente propuesta.

Se llevara a cabo el seguimiento de la realización, ejecución, aplicación y evaluación continua de la misma para garantizar la confiabilidad de los procesos realizados en esta área.

6.8 MODELO OPERATIVO

Tabla 9. Modelo operativo

FASES	METAS	ACTIVIDADES	RECURSOS	PRESUPUESTO	RESPONSABLE	EVALUACIÓN
Planificación	Planificar conjuntamente con la Dirección Provincial de Salud sobre la difusión de la investigación realizada	Reunión de trabajo	Humanos: Grupo investigador	\$100	Autoridades Investigador	Mesa redonda
Diseño	Diseñar un plan de acción para conocimiento	Reunión de trabajo	Humanos: Grupo investigador	\$200	Autoridades Investigador	Mesa redonda
Difusión	Difundir la utilización del método turbidimétrico para la preparación de los inóculos usados en el antibiograma	Reunión de trabajo para posterior visita a los Laboratorios Clínicos Microbiológicos	Humanos: Grupo investigador	\$200	Autoridades Investigador	Reunión de trabajo
Ejecución	El personal de laboratorio deberá cumplir con los estándares establecidos para garantizar la emisión de resultados confiables.	Aplicación de técnicas estandarizadas, con la implementación de equipos	Humanos: Grupo investigador	\$1000	Autoridades Investigador	Revisión de Manuales, Procedimientos, Instructivos y Registros implicados en esta área
Evaluación	El personal de laboratorio será evaluado conjuntamente con las visitas que se realiza para los permisos de funcionamiento por parte de la Dirección Provincial de Salud mediante una ficha de observación.	Elaborar y aplicar instrumentos de evaluación. Realizar seguimiento de la propuesta a través de la observación	Ficha de Observación Humanos: Grupo investigador	\$100	Autoridades Investigador	Permanente

Elaborado por: Freddy Ulloa

6.9 PLAN DE MONITOREO Y EVALUACIÓN

La propuesta será evaluada teniendo en cuenta los datos de la siguiente matriz:

Tabla 10. Evaluación

¿Quién solicita evaluar?	Las autoridades y el investigador
¿Por qué evaluar?	Para alcanzar los objetivos determinados
¿Para qué evaluar?	Para mejorar la propuesta
¿Qué evaluar?	La ejecución de la propuesta
¿Quién evalúa?	El investigador
¿Cuándo evaluar?	Final de la investigación
¿Cómo evaluar?	Mediante observación
¿Con qué evaluar?	Con una lista de Cotejo

Elaborado por: Freddy Ulloa

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarez, M. V., Boquet, E., & De Fez, M. I. (1990). *Manual de Técnicas en Microbiología Clínica*. Quito, Ecuador: Garsi.
2. Brooks, G., Morse, S., Carroll, K., Mietzner, T., & Butel, J. (2010). *Microbiología Médica*. México: Mc Graw Hill.
3. Davey, F., Herman, C., McPherson, R., Pincus, M., Threatte, G., & Woods, G. (2007). *El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico*. Madrid: MARBÁN, S.L.
4. Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., & Win, W. (1999). *Diagnóstico Microbiológico*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
5. Mims, C., Wakelin, D., Playfair, J., Williams, R., & Roitt, I. (1999). *Microbiología Médica*. Madrid: Harcourt Brace.
6. Murray, P., Rosenthal, K., & Pfäuer, M. (2000). *Microbiología*. Madrid: Elsevier.
7. Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
8. Vásquez Urbano, M. L. (2009). *Determinación de Sensibilidad Antimicrobiana mediante Pruebas Estandarizadas y su influencia en los Protocolos de Diagnóstico Microbiológico*. Ambato.

LINKOGRAFÍA

1. Burgos, F. (2002). *Repositorio Universidad de Guayaquil*. Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/811/1/TESIS.pdf>
2. Bvscuba. (12 de Octubre de 2009). *Bvscuba*. Recuperado el 1 de Enero de 2015, de <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0preclini--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-mi-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0gbk-00&a=d&cl=CL1&d=HASH01ebc63ab80c0bbb5a182dab.17.3>
3. Caballero, M. (23 de Diciembre de 2013). *Slideshare*. Recuperado el 21 de Diciembre de 2014, de <http://es.slideshare.net/arturo.caballero/espectrofotometra-29439943>
4. Cercenado, E., & Saavedra, J. (1 de Julio de 2009). *APC*. Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de <http://www.apcontinuada.com/es/el-antibioigrama-interpretacion-del-antibiograma/articulo/80000504/>
5. Chen, W., & De Abreu, Y. (18 de Febrero de 2014). *Geocities*. Recuperado el 18 de Diciembre de 2014, de <http://www.geocities.ws/chex88chex/analitica/Turbidimetria.pdf>
6. Chiriboga, M., & Araujo, C. (17 de Septiembre de 2012). *Repositorio Digital Universidad Central del Ecuador*. Recuperado el 12 de Abril de 2015, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/644/1/T-UCE-0006-28.pdf>
7. CLSI. (01 de Enero de 2013). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Obtenido de <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CCUQFjAB&url=http%3A%2F%2Fxa.yimg.com%2Fkq%2Fgroups%2F17358357%2F1823053181%2Fname%2FCLSI%25202013%2520M100->

S23.pdf&ei=o54kVaHHFsKcNvH8g9gO&usg=AFQjCNGfz0h4K1J2gvb
xg7SkTrp9U80SyQ&bvm=

8. Fuentes, M. (18 de Febrero de 2014). *Educar Argentina*. Recuperado el 18 de Diciembre de 2014, de <http://www.educar-argentina.com.ar/ENE2011/educ296.htm>
9. Gallegos, F. (Diciembre de 2014). *Repositorio Digital Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/8709>
10. Gredos. (13 de Octubre de 2009). *Repositorio Documental de la Universidad de Salamanca*. Recuperado el 17 de Diciembre de 2014, de http://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/120540/3/MID_11_084_2.pdf
11. Hernandez, B., Muñoz, A., Romo, G., Chable, I., & Guillen, A. (19 de Julio de 2005). *ResearchGate*. Recuperado el 18 de Diciembre de 2014, de https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0CC4QFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fprofile%2FGerardo_Romo-Cardenas%2Fpublication%2F265842862_Estudio_de_la_Medicin_de_la_prevalencia_de_colesterol_total_en_suero_de_sangre_
12. Hernández, J. (21 de Abril de 2010). *Cimeq*. Recuperado el 10 de Febrero de 2015, de <http://articulos.sld.cu/cimeq/?p=2323>
13. Jiménez, Y. (25 de Septiembre de 2012). *UTPL*. Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/3915/1/Tesis%20de%20%20Yulisa%20Jimenez.pdf>
14. Optek. (21 de Julio de 2005). *Optek*. Recuperado el 18 de Diciembre de 2014, de http://www.optek.com/es/Turbidity_Measurement_Units.asp
15. Pérez, G. (12 de Noviembre de 2007). *Espectrometria*. Recuperado el 9 de Febrero de 2015, de <http://www.espectrometria.com/>

16. Perilla, M., Ajello, G., Bopp, C., Elliott, J., Facklam, R., Knapp, J., . . . Dowell, S. (2003). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo*. Atlanta: WHO/CDS/CSR/RMD.
17. Prasad, C., Narasimha, A., & Harendra Kumar, M. (8 de Octubre de 2011). *AHRO*. Recuperado el 2015 de Febrero de 2015, de <http://www.atmph.org/text.asp?2011/4/2/110/85763>
18. Prat, S. (2010). *Instituto de Salud Pública de Chile*. Obtenido de http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf
19. Prats, G. (2013). *Microbiología Clínica*. Buenos Aires: Médica Panamericana. Obtenido de https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CCwQFjAC&url=http%3A%2F%2Fdieguin.wikispaces.com%2Ffile%2Fview%2FTurbidimetria.doc&ei=XXeXU_uGA8PksATIn4D4Ag&usq=AFQjCNEpBJxDaFfkzvoio1PkoF5nUUecgQ&sig2=Bp-z-GqMg31005aU9FrtJw&bvm=bv.
20. Quiroz, M. A. (Enero de 2013). *Repositorio digital: Universidad Central del Ecuador*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2014, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/972>
21. Santana, L. (2009). *ESPOCH*. Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/193/1/94T00063.pdf>
22. Soriano, J. (Enero de 2010). *Metas*. Recuperado el 10 de Junio de 2014, de *Metrólogos Asociados*: <http://www.metas.com.mx/guiamet/la-guia-metas-10-01-turbidez.pdf>
23. Vertic. (22 de Diciembre de 2006). *Vertic*. Obtenido de http://www.vertic.org/media/National%20Legislation/Ecuador/EC_Ley_Organica_de_Salud.pdf

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASE DE DATOS UTA

1. **EBRARY:** Mendez-Vilas, A. (2011). Science and Technology Against Microbial Pathogens: Research, Development and Evaluation: Proceedings of the International Conference on Antimicrobial Research (ICAR2010), Valladolid, Spain, 3-5 November 2010. Singapore, SGP: World Scientific Publishing Co. Recuperado el 08 de Abril de 2015, Obtenido de <http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10524650&p00=Antibiograma>
2. **EBRARY:** World, H. O. S. (2003). Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology (2nd Edition). Albany, NY, USA: World Health Organization (WHO). Recuperado el 15 de Abril de 2015, Obtenido de <http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10062389&p00=Antibiograma>
3. **EBRARY.** Harrison, P. F., & Lederberg, J. (Eds.). (1998). Antimicrobial Resistance: Issues and Options. Washington, DC, USA: National Academies Press. Recuperado el 16 de Abril de 2015, Obtenido de <http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10055122&p00=Antibiograma>
4. **EBRARY.** Crespo, M. D. P. (2006). La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. Colombia: Red Colombia Médica. Recuperado el 22 de Abril de 2015, Obtenido de <http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10114918&p00=Antibiograma>
5. **EBRARY.** Soloaga, R. N., Andrada, S. A., & Vilaró, M. L. (2013). Los errores más frecuentes en el laboratorio de microbiología clínica: manual para detectar, comprender y minimizar los errores en el diagnóstico microbiológico clínico. Argentina: Editorial Brujas. Recuperado el 23 de Abril de 2015, Obtenido de <http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10889882&p00=ANTIBIOGRAMA>

ANEXOS

ANEXO 1. Población investigada según género y edad

PACIENTE (MUESTRA)	GÉNERO	EDAD	GRUPO DE EDAD
1	F	7	NIÑOS 3-10
2	F	7	
3	F	9	
4	F	9	
5	F	10	
6	F	16	ADOLESCENTES 11-18
7	F	17	
8	F	18	
9	F	18	
10	F	18	
11	F	20	ADULTOS 19-65
12	F	22	
13	F	22	
14	F	23	
15	F	23	
16	F	25	
17	F	25	
18	F	25	
19	F	26	
20	F	26	
21	M	28	
22	F	30	
23	F	30	
24	F	32	
25	F	33	
26	F	35	
27	F	35	
28	F	37	
29	F	37	
30	F	40	
31	F	43	
32	F	44	
33	F	45	
34	F	51	
35	F	56	
36	F	61	
37	F	65	
38	F	79	ADULTO MAYOR 66-85
39	F	79	
40	F	85	

Fuente: Registro de resultados

Elaborado por: Freddy Ulloa

ANEXO 2. Formato de registro de halos de inhibición

 <p>UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO</p>	<p>REGISTRO DE HALOS DE INHIBICIÓN E INTERPRETACIÓN EN ANTIBIOGRAMAS DE LA BACTERIA <i>E. coli</i> EN UROCULTIVOS</p>
--	--

Día:		CÓD.:		Sexo:		Edad:	
<i>MÉTODO UTILIZADO</i>							
TURBIDÍMETRO				ESCALA MCFARLAND			
Antibióticos	Halo mm	Interpretación	Antibióticos	Halo mm	Interpretación		
KF			KF				
OFX			OFX				
NOR			NOR				
F			F				
SXT			SXT				

Elaborado por:	Revisado por:
El investigador	Encargado del área de Microbiología

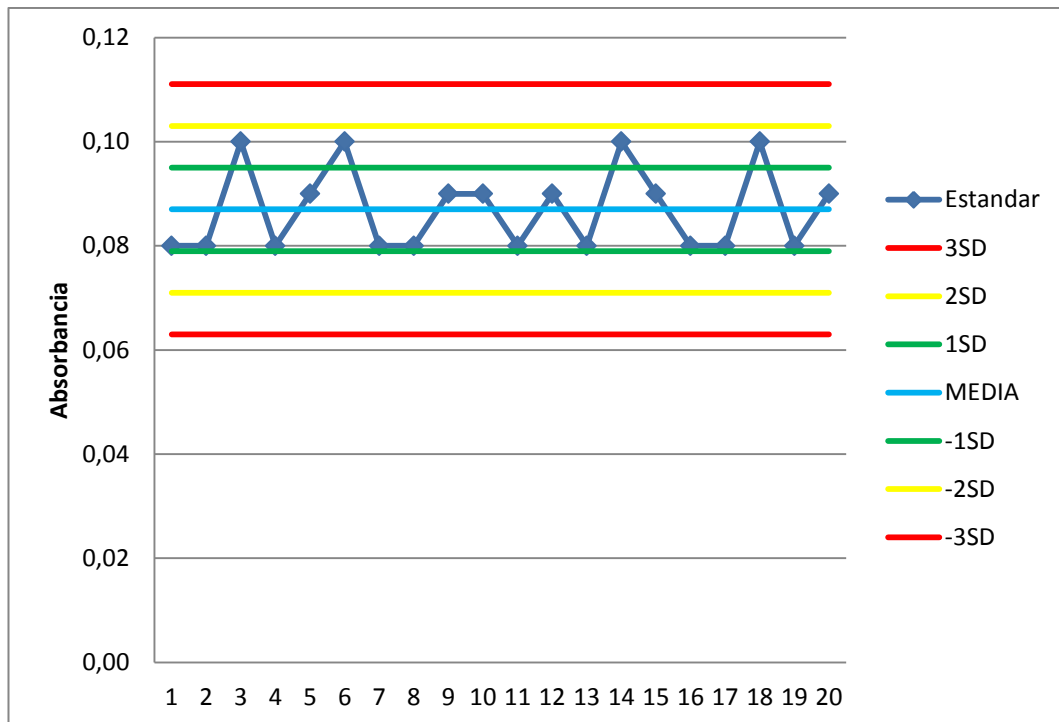
Elaborado por: Freddy Ulloa

ANEXO 3. Registro de lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico

N° Corrida	Fecha	Estándar	Densidad Celular aproximada	Método	Valor meta	Rango	Valor obtenido
1	03/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
2	04/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
3	05/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,10
4	06/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
5	10/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09
6	11/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,10
7	12/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
8	13/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
9	14/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09
10	16/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09
11	17/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
12	18/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09
13	19/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
14	20/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,10
15	21/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09
16	23/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
17	24/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
18	25/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,10
19	26/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,08
20	27/02/2015	0,5 McFarland	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml	Turbidimétrico	0,9	0,08 - 0,10	0,09

Elaborado por: Freddy Ulloa

ANEXO 4. Gráfica de Levey-Jennings del registro de lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico



Elaborado por: Freddy Ulloa

ANEXO 5. Aceptación o rechazo mediante la utilización de la Multirreglas de Westgard de la lectura de la Escala McFarland para control de calidad del equipo turbidimétrico

Regla	Condición	Interpretación
12S	Regla no violada	Aceptación
13s	Regla no violada	Aceptación
22s	Regla no violada	Aceptación
R4S	Regla no violada	Aceptación
41S	Regla no violada	Aceptación
10X	Regla no violada	Aceptación

Elaborado por: Freddy Ulloa

DADE BEHRING

MicroScan®

Medidor de turbidez

Uso propuesto

El medidor de turbidez tiene por objeto medir la turbidez de las suspensiones en un medio líquido mediante una lectura de absorbancia.

Resumen y principios

El medidor de turbidez es un fotómetro de filtrado de uso general, que proporciona una comparación directa inmediata de la absorbancia óptica de dos muestras de líquido por medio de una lectura digital.

El medidor está prefijado para una longitud de onda específica, así como para un tamaño determinado de tubos de muestra.

Instalación

El medidor de turbidez se puede instalar por el usuario simplemente conectando el adaptador a un enchufe de 110V (o 220V). Lea todo el manual antes de su utilización.

Especificaciones técnicas

Estilo de la cubeta:

16 x 80 mm o 12 x 83 mm

Volumen mínimo:

tubo de 2,0 ml por 16 x 80 mm

tubo de 1,3 ml por 12 x 83 mm

Pantalla:

LCD de 3 dígitos

Intervalo de absorbancia:

0 – 1,99 OD

Linealidad:

dentro del 1% o 0,01 OD, lo que sea mayor

Sensibilidad:

0,01 OD

Alimentación eléctrica:

paquete de batería recargable y sustituible por el usuario que proporciona 500 lecturas con cada carga

Cargador:

externo instalado en el muro 115 VAC, 50/60 Hz. o 100, 220, 240 VAC 50/60 Hz.

Tiempo de recarga:

de 8 a 10 horas para una carga total si está totalmente descargado

Intervalo de temperatura ambiente:

Funcionamiento: 10°C a 40°C

Almacenamiento: -20°C a 66°C

Materiales de procedimiento suministrados

Medidor de turbidez

Adaptador de A/A

Manual de funcionamiento

Materiales necesarios que no se suministran

Tubos redondos de 16 x 80 mm o 12 x 83 mm

Medio base de suspensiones para ser estudiadas

Agua desionizada

Instrucciones de funcionamiento

A. Verificación del cero

1. Antes de la utilización, realice la verificación cero del medidor de turbidez. Verifique el cero del medidor de turbidez obteniendo dos tubos redondos de 16 x 80 mm o 12 x 83 mm llenos de agua desionizada. Puede utilizar tubos MicroScan® Saline-PLURONIC* o tubos de agua inoculada (B1015-2).

* Surfactantes PLURONIC® Marca comercial registrada de BASF Corporation, Parsippany, N.J.

Asegúrese que ambas muestras aparecen limpias y claras a simple vista y que los tubos de muestra no están rayados.

2. Inserte un tubo blanco en la posición "BLANCO" o "1" y el segundo tubo en la posición "MUESTRA" o "2".
 3. Observe la lectura en la pantalla digital. Debe ser $0,00 \pm 0,01$. Si se encuentra fuera de ese intervalo:
 - a. Inspeccione ambos tubos blanco para asegurarse que el cristal no está sucio y el medio base no tiene partículas.
 - b. Invierta los tubos blanco y repita la verificación del cero. Si la lectura también se invierte cuando se invierten los tubos blanco, quiere decir que el aparente fallo de ajuste del cero del instrumento es debido a falta de igualdad entre las dos muestras. En este caso no ajuste el cero.
 - c. Si la lectura permanece aproximadamente la misma cuando se invierten los tubos blanco, el cero del instrumento necesita ajuste. Para realizarlo, consulte la sección "Mantenimiento" de este manual.
- B. Determinación de la turbidez
1. Prepare el medio base deseado en el que se realizarán las suspensiones. Dispense al menos 3ml del medio en un tubo redondo limpio de 16 x 80 mm o 12 x 83 mm. Puede utilizar tubos MicroScan Saline-PLURONIC o tubos de agua (B1015-2). Este se utilizará para comparar las suspensiones y resultado de la prueba en una lectura de absorbancia. A este tubo se le denominará "tubo blanco".
 2. Prepare las suspensiones de prueba bacteriana deseada en un medio y tubo del mismo tamaño que el tubo blanco. (Consulte el manual de procedimiento rápido de MicroScan de preparación de inóculos, técnica estándar de turbidez.)
 3. Inserte el tubo blanco preparado en el Paso B1 en la posición "BLANCO" o "1" del medidor de turbidez. Inserte la suspensión de prueba en la posición "MUESTRA" o "2". La inserción del tubo en la posición de muestra pone en funcionamiento el instrumento. Al cabo de 3 segundos, la luz se apaga pero la lectura se mantiene para facilitar el registro. Al cabo de 10 segundos, el instrumento se apaga automáticamente.
 4. La pantalla indica la diferencia en absorbancia entre los tubos de muestra y blanco. El intervalo aceptable equivalente a 0,5 del estándar de McFarland es 0,05 – 0,12.

Calibración

El instrumento ha sido calibrado cuidadosamente en fábrica para A = 0,100 OD. Bajo condiciones normales no debería ser necesario volver a calibrarlo durante su ciclo de vida.

Limitaciones y precauciones de funcionamiento

1. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Lea todo el manual antes de su utilización.
3. Evite derramar líquidos en el instrumento ya que podrían dañar partes sensibles del mismo.
4. Las baterías recargables de Ni Cd deberían bastar para al menos 500 lecturas entre recargas. Cuando el voltaje de la batería ha descendido hasta el punto en el que pudiera darse un error de lectura, un circuito de verificación de



ANEXO 6. (cont.).

batería apagará la pantalla. Esta es la señal de que la batería debe recargarse. Las baterías pueden recargarse durante la noche o se puede dejar enchufado el instrumento indefinidamente sin que esto cause daño alguno.

Mantenimiento

No se deben realizar, bajo ninguna circunstancia, otros procedimientos de mantenimiento aparte de los aquí expuestos. Desenchufe siempre el adaptador de A/A antes de iniciar los procedimientos de mantenimiento.

1. Retirada y sustitución de la cubierta

Para realizar los pasos de mantenimiento, es necesario retirar la cubierta del instrumento. Dé la vuelta al instrumento y, con un destornillador, afloje sin retirar los los cuatro tornillos en los pies de goma en la parte inferior del instrumento. Separe haciendo palanca suave el plato inferior de metal negro, levántelo con los pies de goma y los tornillos aún conectados, y póngalo a un lado. Mientras sostiene la tarjeta de circuitos en su sitio, ponga el instrumento en posición vertical y colóquelo en una superficie plana con la parte trasera del instrumento orientada hacia usted. Levante con cuidado la cubierta de plástico unas dos pulgadas. Localice el conector de pantalla negro de una pulgada de largo en el borde trasero de la tarjeta de circuitos. Retire este conector sujetando sus dos bordes y tirando hacia arriba. Ahora se puede levantar y sacar del instrumento la cubierta y la pantalla y dejarlas a un lado.

Sustituya la cubierta con la parte trasera del instrumento orientada hacia usted. Sujete la cubierta encima de la tarjeta de circuitos y alinee el conector con los pasadores en la tarjeta de circuitos. El cable rojo debe estar a su izquierda. Empuje el conector en los pasadores hasta que éstos estén insertados por completo, asegurándose que el cable de la pantalla está orientado hacia el centro del instrumento y no obstruye los agujeros en los sostenedores de los tubos. Baje la cubierta sobre la tarjeta de circuitos. Coloque el instrumento al revés de manera que la parte delantera de la cubierta quede orientada hacia usted. Alinee los agujeros en las cuatro esquinas en la tarjeta de circuitos con los encastres roscados de la cubierta. Sustituya el conjunto del plato inferior de manera que la parte impresa esté hacia arriba. Apriete los cuatro tornillos. No los apriete en exceso.

2. Limpieza de las superficies ópticas

Para limpiar las superficies ópticas, retire primero la cubierta como se muestra en el Paso 1. Las superficies que necesitan limpiarse son las superficies de las lentes en el bloque óptico como se muestra en la Figura 1.

Figura 1. Limpieza de las superficies ópticas



E-1801SPN

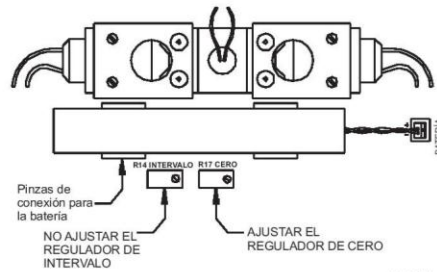
Limpie las lentes con bastoncillos de algodón u otro material suave y alcohol teniendo cuidado de no permitir que se queden en las lentes hilos u otros restos.

3. Restablecimiento del cero

Realice este paso sólo si la verificación del cero indica que el instrumento necesita que se restablezca el cero. El ajuste del cero será necesario más a menudo en condiciones de trabajo con polvo. Este paso debe realizarse alejado de luz directa.

- Retire la cubierta y limpie las superficies ópticas con cuidado según se muestra en los Pasos 1 y 2.
- Enchufe el conector de la pantalla en la tarjeta de circuitos y coloque la cubierta detrás del instrumento de manera que el tubo pueda insertarse y el regulador de precisión R-17 ajustarse.
- Inserte los dos tubos de blanco con agua usados en la verificación del cero. Con los dos tubos de blanco en su lugar, utilice un destornillador pequeño para girar el regulador de precisión R-17 como se muestra en la Figura 2 hasta que la pantalla muestre cero.

NO GIRE NINGÚN OTRO REGULADOR DE PRECISIÓN.



E-1407SPN

Figura 2. Restablecimiento del cero

- Sustituya la cubierta y vuelva a comprobar el cero con los dos tubos de blanco de agua. Debe permanecer en $0,00 \pm 0,01$.
- #### 4. Sustitución del paquete de batería
- Para sustituir el paquete de la batería, primero retire la cubierta como se indica en el Paso 1.
- Localice el paquete de la batería en la tarjeta de circuitos y desenchufe el conector haciendo pinza en el seguro y levantándolo de la tarjeta de circuitos.
 - Levante el paquete de la batería y retírelo de las guías de la batería.
 - Encaje el nuevo paquete de batería en las guías de la batería.
 - Enchufe el conector en la tarjeta de circuitos. **EL CONECTOR ESTÁ POLARIZADO. NO LO FUERCE EN LA TARJETA DE CIRCUITOS.**
 - Sustituya la cubierta.

Nota: si es necesario desechar el paquete de baterías, siga las normativas locales, estatales y federales.

Solicitud de información

Pieza MicroScan No.	Descripción
6500-0823	Paquete de batería

Para obtener más información llame al Centro de asistencia técnica al 901 11 65 61.

ANEXO 7. Fotos de la investigación



Gráfico 35. Discos antimicrobianos usados para antibiograma procedente de urocultivos.
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 36. Colonias aisladas de *E. coli*.
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 37. Equipo Turbidimétrico utilizado, control del equipo frente a solución salina.
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 38. Equipo Turbidimétrico utilizado, control del equipo frente a escala 0,5 de McFarland
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 39. Lectura de la escala 0,5 de McFarland
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 40. Lectura turbidimétrica del inóculo bacteriano
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 41. Comparación visual del inóculo bacteriano junto a la escala 0,5 de McFarland
Fuente: Investigación de campo

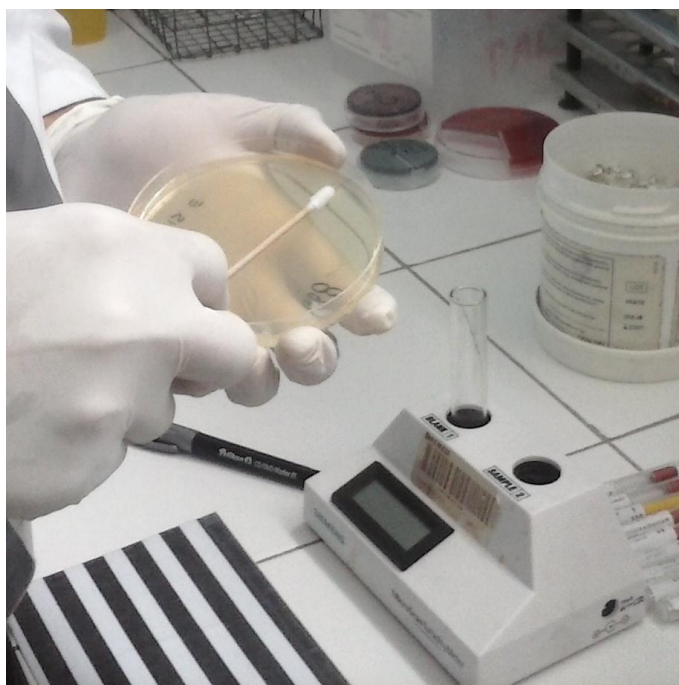


Gráfico 42. Estriamiento del inóculo en la caja con agar Mueller Hinton
Fuente: Investigación de campo

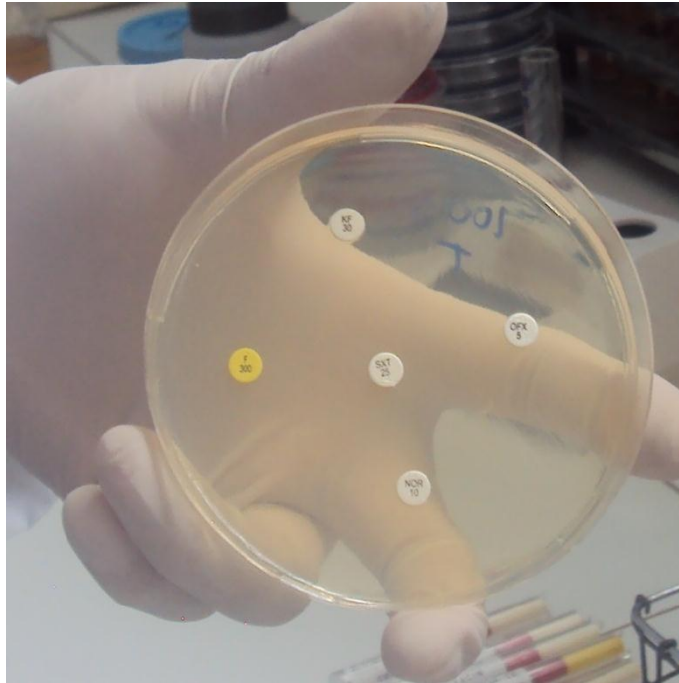


Gráfico 43. Colocación de discos antimicrobianos
Fuente: Investigación de campo



Gráfico 44. Colocación de cajas Petri en la estufa bacteriológica
Fuente: Investigación de campo

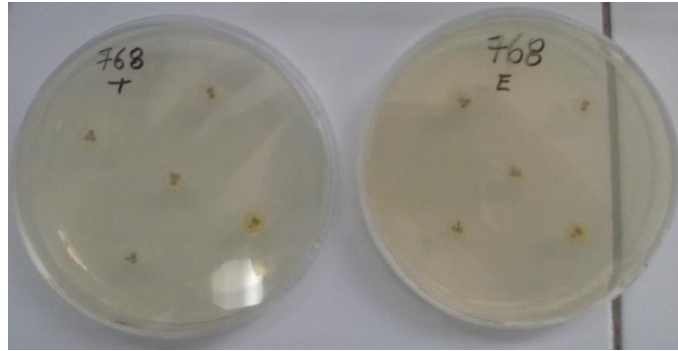


Gráfico 45. Cajas Petri inoculadas a partir del método turbidimétrico y comparación visual
Fuente: Investigación de campo

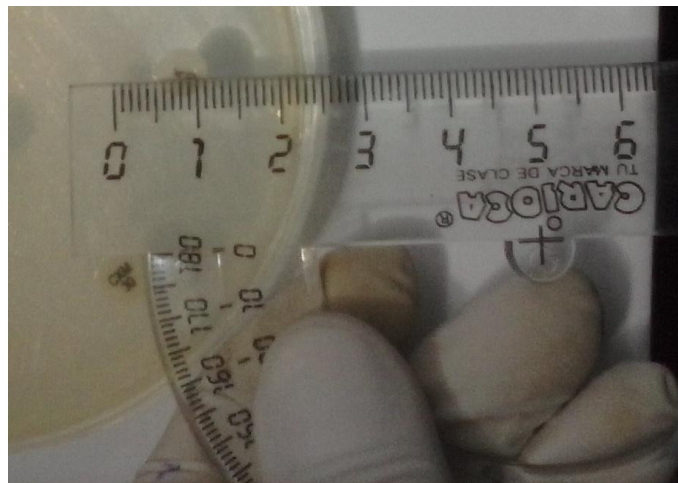


Gráfico 46. Lectura de los halos de inhibición
Fuente: Investigación de campo