



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

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE
INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE
EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Autora: Ortiz Meneses, Jazmina Ameth

Tutora: Lic. Mg. Salazar Garcés, Dolores Krupskaya

Ambato – Ecuador

Mayo 2016

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Proyecto de Investigación sobre el tema:

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO” de Ortiz Meneses Jazmina Ameth 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, Febrero del 2016

LA TUTORA

.....

Lic. Mg. Salazar Garcés, Dolores Krupskaya

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Proyecto de Investigación **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO”** como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora del Trabajo de Grado.

Ambato, Febrero del 2016

LA AUTORA

.....

Ortiz Meneses, Jazmina Ameth

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Febrero del 2016

LA AUTORA

.....

Ortiz Meneses, Jazmina Ameth

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO”** de Ortiz Meneses Jazmina Ameth estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Mayo del 2016

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

“A mis padres quienes me han impulsado durante toda mi carrera, a mi amado esposo Rafael que me apoya siempre con sabiduría, y a mis adorados hijos Abigail y Roberto que han sido el impulso para alcanzar mis metas”.

AGRADECIMIENTO

Primeramente a mis Docentes quienes han sido un pilar fundamental en mi desarrollo profesional, a mi familia que siempre he podido contar con ellos, y a mi Tutora Lcda.

Dolores quien me guiado con sus conocimientos.

ÍNDICE

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	ii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN.....	xiv
SUMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
Abreviaturas	3
CAPÍTULO I.....	4
EL PROBLEMA	4
1. TEMA	4
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1.1. CONTEXTO	4
1.1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	7
1.2. JUSTIFICACIÓN.	7
1.3. OBJETIVOS	8
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	8
CAPÍTULO II	10
MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. ESTADO DEL ARTE.....	10
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	12

2.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.....	12
2.2.1.1 MICROORGANISMOS	12
2.2.1.2 Bacterias Patógenas.....	14
2.2.1.3 HONGOS	17
2.2.1.4 PARÁSITOS	18
2.2.1.5 VIRUS.....	19
2.2.2.1 INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES.....	20
2.2.2.2 INFECCIONES EN EL SEMEN	24
2.2. 3 MEDIOS DE CULTIVO	30
2.2.3.1 SANGRE AGAR BASE	30
2.2. 3.2 MAC CONKEY AGAR.....	32
1.1 Instrucciones.....	33
2.3 HIPÓTESIS Ó SUPUESTOS	34
CAPÍTULO III.....	35
MARCO METODOLÓGICO.....	35
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	35
3.2. SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO	36
3.3 POBLACIÓN	36
3.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	36
3.5 Diseño muestral.....	37
3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	38
3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE: Identificación de Bacterias patógenas	38
3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE: Infecciones de vías Seminales.....	39

3.7 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	40
3.7.1 EXAMEN EN FRESCO	43
3.7.2 TINCIÓN DE GRAM.....	44
3.7.3 CULTIVO	46
3.7.4 SIEMBRA EN AGAR SANGRE	46
3.7.5 SIEMBRA EN AGAR MACCONKEY.....	48
3.8. PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS.....	50
3.8.1 CITRATO DE SIMONS	50
3.8.2 UREA.....	51
3.8.3 HIERRO TRIPLE AZÚCAR (TSI)	52
3.8.4 MEDIO SULFURO INDOL MOVILIDAD (SIM).....	55
3.8.5 ACTIVIDAD CITOCROMO-OXIDASA	56
3.8.7 PRUEBA DE LA CATALASA.....	59
3.8. 8 PRUEBA DE LA COAGULASA.....	60
3.8.9 PRUEBA DE FERMENTACIÓN DE MANITOL SALADO	61
3.9 ASPECTOS ÉTICOS.....	63
CAPÍTULO IV	64
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
4.1. TABULACIÓN.....	64
DISCUSIÓN.....	83
CONCLUSIONES.....	84
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
LINKOGRAFÍA:	88

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA	92
ANEXOS	93

ÍNDICE DE IMAGEN

Imagen N° 1 Técnica de siembra por estría.....	44
Imagen. N° 2 Técnica de inoculación en agar inclinado.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Edad.....	64
Tabla N° 2 Germen.....	66
Tabla N° 3 Solicitud de Antibiograma.....	67
Tabla N° 4 No antibiograma.....	68
Tabla N° 5 Muestras para antibiograma.....	69
Tabla N° 6 Sensibilidad a Cefazolina.....	70
Tabla N° 7 Sensibilidad ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg.....	71
Tabla N° 8 Sensibilidad a Cefotaxima.....	72
Tabla N° 9 Sensibilidad a Clindamicina.....	73
Tabla N° 10 Sensibilidad a Cetazidime.....	74
Tabla N° 11 Datos Pacientes.....	75
Tabla N° 12 Recolección de Datos.....	78
Tabla N° 13 Recolección datos Antibiogramas.....	82

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Edad.....	65
Gráfico N° 2 Germen.....	66
Género N° 3 Solicitud de Antibiograma.....	67
Gráfico N° 4 NO ANTIBIOGRAMA.....	68
Gráfico N° 5 Muestras para antibiograma Gráfico N° 7 Sensibilidad a Cefazolina..	69
Gráfico N° 6 Sensibilidad a Cefazolina.....	70
Gráfico N° 7 Sensibilidad ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg.....	71
Gráfico N° 8 Sensibilidad a Cefotaxima.....	72
Gráfico N° 9 Sensibilidad a Clindamicina.....	73
Gráfico N° 10 Sensibilidad a Cetazidime.....	74

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE
INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE
EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO”**

Autora: Ortiz Meneses Jazmina Ameth

Tutora: Lic. Mg. Dolores Salazar Garcés

Fecha: Febrero del 2016

RESUMEN

Las infecciones de las vías seminales se presentan en hombres entre 20 y 40 años de edad y las molestias que causan son un grupo de condiciones que tienen en común la presencia de un número significativo de bacterias en el semen.

Las infecciones agudas de las vías seminales se pueden subdividir en dos grandes categorías anatómicas: la infección de las vías superiores (uretritis y prostatitis) y la infección de las vías inferiores.

En la mayor parte de los casos, el crecimiento de una cantidad de colonias/ml, puede ser clínicamente importante, especialmente en adultos jóvenes y en especímenes obtenidos por cultivo seminal, cualquier crecimiento es considerado clínicamente importante.

La infección de las vías seminales puede ser recidivante, que pueden ser recaídas o re infecciones. La recaída se refiere a la reactivación de la infección con la misma bacteria que estaba presente antes de iniciarse el tratamiento, es decir se debe a la persistencia de la bacteria en vías seminales.

La re infección es el efecto que causa un microorganismo diferente del original, aunque en ocasiones puede ser el mismo microorganismo por presentar resistencia al antibiótico.

Es importante y necesario conocer la etiología, sensibilidad y resistencia antimicrobiana en pacientes adultos con Infección de vías seminales. Para evitar que el paciente presente a largo plazo esterilidad.

PALABRAS CLAVES: BACTERIAS_PATÓGENAS, INFECCIONES, VÍAS_SEMINALES, ETIOLOGÍA, SENSIBILIDAD, ANTIMICROBIANA.

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

"IDENTIFICATION OF BACTERIA PATHOGENS CAUSE OF INFECTIONS OF
DEVELOPING SEMINAL IN MEN FROM 20 TO 40 YEARS OF AGE WHO COME
TO THE LABORATORY CENTRAL PUYO"

Author: Ortiz Meneses Jazmina Ameth

Tutor: Lic. Mg. Dolores Salazar Garcés

Date: February 2016

SUMARY

The seminal tract infections occur in men between 20 and 40 years of age and the inconvenience that cause are a group of conditions that have in common the presence of significant numbers of bacteria in semen. Acute infections of the seminal tract can be subdivided into two main anatomical categories: infection of the upper tract (prostatitis and urethritis) and lower tract infection. In most cases, the growth of a number of colonies/ml, can be clinically important, especially in young adults and specimens obtained by seminal culture, any growth is considered clinically important.

The seminal tract infection may be recurrent, relapses can be recovery or re infections. Relapse refers to the reactivation of the infection with the same bacteria that was present before treatment, i.e. due to the persistence of the bacteria developing seminal.

The re infection it causes a different from the original micro-organism, although it can sometimes be the same organism presented resistance to the antibiotic.

It is important and necessary to know the etiology, sensitivity and antimicrobial resistance in adult patients with seminal tract infection. To avoid that the patient present long-term sterility.

KEY WORDS: BACTERIAS_PATOGENAS, INFECTIONS, SEMINAL VIAS_, ETIOLOGY, ANTIMICROBIAL, SENSITIVITY.

INTRODUCCIÓN

"Al investigar de forma continua durante varios meses, poniendo todos mis esfuerzos sobre las consultas, buscando respuesta a miles de preguntas.

Buscando ayuda con profesionales para despejar las dudas.

Al realizar las identificaciones y luego de vivir unos momentos con los pacientes espero que todas aquellas experiencias puedan ser impregnadas en este proyecto

para que sea de ayuda a mis sucesores de la Universidad Técnica de Ambato

- Ortiz Meneses Jazmina Ameth -

La presente investigación analizó un estudio de las incidencias de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que asisten al Laboratorio Central Puyo, evidenciando que el desconocimiento conllevó a cuadros patológicos que señalan problemas.

La infección de las vías seminales constituye una de las infecciones más frecuentes en los hombres. Cuando microorganismos, generalmente bacterias del tubo digestivo, se aferran a la uretra, que es la abertura a las vías urinarias, comienzan a reproducirse, ocurre una infección. La mayor parte de las infecciones es causada por una clase de bacterias las enterobacterias, entre ellas *Escherichia coli* (80% de los casos), *Klebsiellas*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*. Existen además otros agentes que siguen en frecuencia, como ser *Streptococcus* del grupo B y *Staphylococcus coagulasa* negativo, que habitan normalmente en el colon. En la mayor parte de los casos las bacterias comienzan a crecer en la uretra.

Durante la edad adulta se producen modificaciones anatómicas y funcionales que aumentan el riesgo a padecer una infección seminal. Entre ellas se destacan, el aumento del volumen urinario en los uréteres que produce una columna líquida continua que ayuda a la propagación de la infección desde la vejiga al riñón, disminución del tono uretral y vesical que se asocia a un aumento del volumen urinario en la vejiga

aumentando su capacidad vesical y disminuyendo su vaciamiento, obstrucción parcial del uréter, aumento del pH de la orina especialmente por la excreción aumentada de bicarbonato que favorece la multiplicación bacteriana, hipertrofia de la musculatura longitudinal del uréter, aumento de la filtración glomerular que determina la presencia de glucosa en la orina lo que favorece la aparición de los gérmenes, aumento del reflujo vesicoureteral.

Debido a la importancia que desde el punto de vista de diagnóstico y pronóstico tienen las infecciones en el líquido seminal de hombres, la detección de estos microorganismos y su rol en la infertilidad e importante el estudio de calidad del semen en el examen de laboratorio Clínico para mejorar la calidad de vida de los pacientes que acuden al Laboratorio Central Puyo.

Abreviaturas

CO: Monóxido de Carbono

OMS: Organización Mundial de la Salud.

IGU: Infecciones genitourinarias

ITS: Infecciones de transmisión sexual.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1. TEMA

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO.”

1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1. CONTEXTO

Las infecciones genitourinarias (IGU) en el hombre representan a nivel Mundial un porcentaje importante en la etiología de la infertilidad,¹ y aunque no están claros los mecanismos patogénicos implicados a nivel celular, de alguna forma alteran la calidad espermática y afectan principalmente la cantidad y movilidad de los espermatozoides (pre-requisito esencial para la fertilización). Las infecciones del tracto genital, causadas por infecciones de transmisión sexual provocan inflamación de las glándulas sexuales accesorias y del epidídimo, por lo que se recomienda la identificación de los gérmenes implicados mediante un espermocultivo.² La reinfección explica el fracaso a tratamientos de infertilidad. Estas, que en su mayoría son tratables, muchas de ellas no reciben tratamientos, porque son difíciles de diagnosticar o por la falta de servicios competentes y disponibles.

Debido a la importancia que desde el punto de vista de diagnóstico y pronóstico tienen las infecciones en el líquido seminal de hombres infértiles y que todavía se subestiman, son cada vez más los trabajos publicados a favor de la detección de estos microorganismos y su rol en la infertilidad,^{3,4} que inhiben muchas veces la movilidad del espermatozoide al adherirse a la pieza media de la cola, ya sea por aglutinación de

estos,⁵ o por sustancias que secretan al medio extracelular que lo inmovilizan, lo cual se traduce en una afectación de la fertilidad.⁷

El estudio de calidad del semen es el examen de laboratorio más importante en la fertilidad masculina,⁸ y es una de las prácticas que se efectúan en los servicios de atención a parejas infértiles, lo cual incluye movilidad, concentración, viabilidad, morfología y pH, siguiendo las normas recomendadas por la OMS.¹³ A pesar de esto, muchas veces los resultados satisfactorios de estos parámetros seminales convencionales no se corresponden con los resultados que desde el punto de vista de fertilidad tienen estos individuos, por lo que clínicamente no son siempre suficientes para demostrar la función espermática y fertilidad masculina. El hecho de no encontrar alteraciones en los parámetros seminales no indica que la capacidad funcional de los espermatozoides no se encuentra comprometida, ya que tanto las bacterias, como sus productos y el incremento de la peroxidación de la infección, podrían ocasionar cambios bioquímicos y moleculares en la membrana espermática, que afectan la reacción acrosómica y su capacidad de fusión con el ovocito, así como daños en el ADN espermático.^{4,5}

En México se han identificado que las infecciones seminales en el hombre con frecuencia son de poca sintomatología, por lo que permanecen largo tiempo sin ser identificadas y generan secuelas que pueden conducir a la infertilidad. La asociación entre leucocitospermia y defectos morfológicos en los espermatozoides compromete no solo los eventos de fertilización de estos individuos, sino la implantación, e incluso, embarazo futuro, por lo que es necesario realizar estudios más profundos de morfología espermática.⁶

A pesar de que en la literatura aparece un gran número de patógenos (bacterias, micoplasmas, chlamydia, hongos y virus) en el semen involucrados en la infertilidad masculina,⁷ su identificación es todavía limitada, pues no existen estrategias para el control de las infecciones, ni métodos de detección disponibles, de aquí el "manejo sindrómico",⁸ basado en el diagnóstico y tratamiento por síntomas, en lugar de pruebas

de laboratorio, que en muchos casos no ha resultado efectivo por contribuir al desarrollo de resistencia de microorganismos a los antibióticos, además de su probada ineficacia en los casos de infecciones presentes que no producen síntomas, pero que constituyen un porcentaje importante de ITS curables, con consecuencias graves si no se tratan.

En este contexto, numerosos trabajos realizados en Colombia, Venezuela, enfatizan en el estudio de los microorganismos patógenos que provocan alteraciones en la fecundidad, desde la calidad seminal y moco cervical, hasta la fecundación, implantación, e incluso, la expulsión de huevos y embriones,⁹ además son una fuente de infección para la mujer fertilizada, al detectarse una alta prevalencia de ITS en el semen utilizado,¹¹ que a su vez incrementan el riesgo de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH),¹² entre otros. De aquí la importancia del desarrollo de la microbiología como ciencia en la atención a parejas con problemas reproductivos.

En Ecuador también se han realizado estudios de las diferentes especies y cepas bacterianas encontradas en el semen de a determinado que alrededor del 70% de las muestras de semen están contaminadas por bacterias, la mayoría de ellas no son patógenas y sin significado sobre la función espermática. Con la aparición de los métodos de amplificación utilizando la reacción en cadena de la polimerasa, se ha llegado a la conclusión de que los métodos microbiológicos de detección utilizados en el pasado han sobreestimado la incidencia de bacteriospermia significativa. Generalmente, se pueden cultivar varios microorganismos del tracto genital de varones, con más de una cepa bacteriana en la mayoría de los casos¹³. La prevalencia de la bacteriospermia en varones, tanto fértiles como infértiles, oscila del 10 al 100% según datos de la investigación.

La influencia de la infección de la vía seminal sobre la esterilidad es todavía motivo de debate, y la exacta relación aún no está clara, pero se cree que el 15 - 40% de las parejas pueden tener esta etiología.

En la ciudad del Puyo no se han realizado estudios sobre la frecuencia de microorganismos en la próstata, vesículas seminales, conductos deferentes, epidídimo y testículo, que pueden originar procesos inflamatorios de tipo obstructivo, disfunciones secretoras, adherencia de los microorganismos al espermatozoide y desarrollo de anticuerpos antiespermatozoide. La OMS agrupa los distintos estudios en tres tipos: básicos, opcionales y avanzados. El estudio microbiológico está entre los opcionales, aunque tiene indicaciones para hacerlo, es por esto que se propuso realizar el estudio para conocer cuáles son microorganismos patógenos causantes de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo

1.1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Cuáles son las bacterias patógenas que causan infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo?

1.2.JUSTIFICACIÓN.

La identificación de microorganismos en el líquido seminal es un tema de actualidad ya que para mantener una buena salud, como en el ámbito sexual y reproductivo es muy importante realizarse exámenes que nos permitan identificar posibles enfermedades de manera oportuna para su adecuado tratamiento como es en el caso de las infecciones a las vías seminales y más considerando el hecho que muchos hombres son asintomáticos hasta cuando la infección ya está en etapa crónica.

Las actuales técnicas microbiológicas de diagnóstico facilitan la detección de un gran número de gérmenes que afectan la calidad del semen y conducen a la infertilidad masculina, entre ellos, parásitos y hongos.¹³

La realización de la presente investigación es importante, ya que permitió determinar las diferentes bacterias oportunistas que contribuyen al proceso infeccioso de las vías seminales en hombre de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo, al igual que permitió conocer el grado de patogenicidad de las bacterias que se incuban en el semen en los pacientes que asisten a la unidad, permitiendo brindarles a los pacientes un tratamiento adecuado a través de los protocolos de atención y prevención de afecciones más graves, que podrían causar inclusive la esterilidad.

De igual manera se podría manifestar que la investigación es de impacto ya que en la actualidad no existen los suficientes estudios que permitieron evidenciar los tipos de microorganismos que causan infecciones graves en las vías seminales en los pacientes hombres de 20 a 40 años de edad que acudieron al Laboratorio Central Puyo.

Por otro lado, el presente estudio es novedoso debido a que se propone un tema de actualidad que brinde los suficientes conocimientos investigativos tanto cuantitativos como cualitativos a quien haga uso del presente documento, contribuyendo de esta manera al enriquecimiento del profesional en proceso o al profesional que desea conocer más acerca de la realidad que envuelve esta investigación.

De igual manera este estudio es innovador, ya que se propuso estrategias y técnicas para permitan determinar con éxito los diferentes agentes bacteriológicos oportunistas que afectan a los pacientes. Fueron parte de los beneficiarios todos y cada uno de los pacientes que acudieron Laboratorio Central Puyo.

1.3.OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar bacterias patógenas causantes de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ▶ Utilizar protocolos microbiológicos para identificar bacterias oportunistas potencialmente patógenas causantes de infecciones de la vía seminal
- ▶ Determinar la bacteria con mayor prevalencia en infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Puyo
- ▶ Identificar la frecuencia de infecciones graves de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ESTADO DEL ARTE

J. Rojas-Retiz en su estudio: “LAS BACTERIAS COMO CAUSA DE INFERTILIDAD MASCULINA” realizado en el Instituto de Medicina Reproductiva y Andrología S. C. México, DF. en el año 2013. Indica que una causa frecuente de infertilidad masculina es el daño producido por procesos infecciosos.

El tracto genital masculino esta colonizado por bacterias comensales como *Estafilococos epidermidis*, *difteroides* y algunas especies de estreptococos. Sin embargo, un número de infecciones del tracto genital son establecidas como causantes de infertilidad masculina.

Su fisiopatología involucra daño de los túbulos seminíferos u obstrucción del paso del espermatozoides a epidídimo o conductos eyaculadores.

En adición algunos microorganismos tienen un impacto desfavorable en la calidad del semen.

Los Micoplasmas genitales (*Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis*), la Chlamydia (*Chlamydia trachomatis*) y diversas bacterias como *E. coli* ,*Estreptococos b -hemolítico* , *Enterococos faecalis* , etc. son agentes patógenos importantes responsables cada vez más frecuentes de infecciones genitales que pueden causar infertilidad, induciendo uretritis, prostatovesiculitis, epididimitis y alteraciones de la función del espermatozoides.

Así mismo, se ha informado de la prevalencia de infecciones del tracto genital siendo para *U. urealyticum* del 36%, *M. Hominis* del 7.6%, *C. trachomatis* 0.5% e infecciones bacterianas en un 39%. ¹

Sin embargo, el impacto de las infecciones principalmente por micoplasma genital y chlamydia en la calidad del semen y el potencial de fertilidad del espermatozoides es aún controversial.

Se estudiaron 68 muestras de semen de pacientes con infertilidad masculina en el Laboratorio del Instituto de Medicina Reproductiva y Andrología (IMRA) a las cuales se les realizó un análisis de semen, cultivos generales, cultivos especiales para micoplasma y determinación de Ab IgG anti- *Chlamydia trachomatis* .

La muestra de semen utilizada para los análisis fue obtenida por masturbación con 2-5 días de abstinencia sexual en un contenedor estéril; toma directa de secreciones uretrales así como muestras de suero.

El análisis de semen se practicó siguiendo los lineamientos del Manual de Laboratorio de la OMS, ¹, a excepción de la morfología que se valoró por Criterios Estrictos de Kruger ^{2,3,4}.

El cultivo de micoplasmas genitales (*M. hominis* , *M. fermentans* y *U. urealyticum*) se identificó mediante Cultivo en Medios Selectivos y Diferenciales (Kit comercial Mycoplasma-Lyo), para el espermocultivo se utilizó el método de Identificación y Antibiograma con Autoscan-4.

La determinación de anticuerpos IgG anti- *Chlamydia trachomatis* se realizó de manera Inmunoenzimática (IEA) con el estuche comercial Platetest Chlamydia IgG, considerando un valor positivo cuando éste es mayor de 1.10.

La muestra representativa fue estimada considerando el número de pacientes con cultivos positivos y negativos correlacionándolos con los índices anormales que se encontraron en el análisis de semen. De las 68 muestras estudiadas 23 (34%) fueron cultivos positivos

En el artículo “INFECCIONES SEMINALES EN HOMBRES ESTÉRILES Y SU RELACIÓN CON LOS PARÁMETROS ESPERMÁTICO”, realizado por la Dra. Pustilnik Estefania, en el año 2012. Se estima la prevalencia de infecciones seminales en hombres que consultan el centro para la fertilidad de la pareja de la ciudad de Rosario, por infertilidad.

Las causas más frecuentes son la infección por *E. coli* y otras infecciones de transmisión sexual (gonococo, clamidia, tricomonas, etc.). *Staphylococcus epidermidis*

no es un germen frecuente. Suele asociarse a una epididimitis, y uretritis, con el mismo origen infeccioso.

Se trata con antibióticos específicos según el cultivo de orina realizado en la primera orina, en la orina de mitad de la micción y de la orina tras un masaje de la próstata (realizado por el médico), así como el cultivo de esperma.

Suele necesitarse un periodo largo de medicación entre 6 y 8 semanas. En ocasiones son necesarios meses de tratamiento, ya que son frecuentes las recaídas.

Concluyendo que de todos lo analizados un 23% presentan una infección seminal y de este 23% el 88% son provocadas por bacterias como: *E. coli*, *M. hominis*, *M. fermentans* y *U. urealyticum* con respecto a la literatura existe una extensa variación en cuanto a la alteración de los índices del semen cuando el paciente infértil presenta cultivos positivos, algunos autores mencionan la alteración principalmente de la concentración, motilidad, volumen y morfología, en tanto que en otros estudios no se encontró modificación alguna de los índices. Sin embargo, en este trabajo encontramos una disminución en los índices de volumen, concentración, motilidad, viabilidad y morfología aunque estadísticamente sólo la morfología esta significativamente alterada

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

2.2.1.1 MICROORGANISMOS

A los microorganismos se ha agrupado tomando en cuenta sus características de morfología, fisiología en:

BACTERIAS

En general, todas las bacterias constituyen organismos unicelulares procariotas, esto significa que están formados por una sola célula que además, no posee un núcleo.

Son células procariotas muy abundantes que pueden encontrarse en cualquier medio debido a la gran variedad de metabolismos que pueden presentar.

Una forma de clasificar a las bacterias es de acuerdo a su nutrición. A partir de esta, podemos decir que las hay heterótrofas y autótrofas, otra forma de clasificar es de acuerdo a su forma.

Algunas bacterias necesitan oxígeno para vivir pero en cambio, otras pueden vivir sin tener contacto con el aire en momento alguno y en determinados casos, incluso pueden morir si se las expone al oxígeno. Estas son las llamadas anaeróbicas y para respirar realizan un complejo proceso conocido como la respiración anaeróbica ⁸.

Son microorganismos capaces de causar daño al ser humano, se los puede encontrar en ambientes diversos que reflejan el amplio espectro de la evolución de estos organismos. Se han encontrado especies que viven a temperaturas comprendidas entre el punto de congelación y el punto de ebullición del agua, en agua salada y en agua dulce, en presencia y en ausencia de aire.

Algunos han desarrollado ciclos de vida que incluyen una fase de latencia en respuesta a la falta de nutrientes. Numerosas especies bacterianas, virus, hongos o protozoos, proliferan en las superficies expuestas a la humedad formando una biopelícula de microorganismos contenidos que al contacto con el ser humano pueden llegar a infectarlo si encuentran una puerta de entrada adecuada, causando así diferentes patologías de acuerdo al microorganismo infectante presentando sus signos y síntomas característicos⁶.

Las bacterias pueden ser identificadas con un cultivo o sin él mediante la caracterización de sus secuencias de ADN ribosomal³.

La microbiología es la ciencia que estudia el mundo microbiano. El cultivo es una técnica que permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación así como el estudio de sensibilidad a los antibióticos. En el cultivo es esencial la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación⁹

2.2.1.2 Bacterias Patógenas

Las principales especies de bacterias dentro de los géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma* responsables de infecciones en el semen, asociadas a infecciones del tracto reproductor masculino y fallos en la reproducción son:

El Micoplasma genitalium

Provoca enfermedades urogenitales en el hombre como agente de transmisión sexual, y estudios en semen muestran la unión de este al espermatozoide humano, afectando la movilidad espermática, requisito esencial para la fertilización.²

El Ureaplasma urealitycum

Es considerado uno de los patógenos más comunes del tracto genitourinario, pues provoca daño directo al espermatozoide¹² y decrecimiento de los niveles de factores inmunosupresores en el plasma seminal, además, cambios de pH y prolongación de la liquefacción del semen, lo cual conduce a la declinación de la calidad espermática.¹³

Escherichia coli

Es el patógeno oportunista aislado con más frecuencia de infecciones del tracto urinario, forma parte de la familia Enterobacteriaceae está integrada por bacilos Gram

negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en Agar Mac Conkey y en medios simples con o sin agregado de Na Cl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. La *Escherichia coli*, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos.

Las IVU son generalmente infecciones ascendentes causadas por cepas presentes en la flora normal intestinal que presentan factores de virulencia que les permiten invadir, colonizar y dañar el tracto urinario

Klebsiella spp

La klebsiella, es una bacteria de la familia de las enterobacterias, Gram Negativa, es Anaerobia Facultativa.

Este grupo de Enterobacterias, es una causante directa importante de las Infecciones Intrahospitalarias.

Pues crea resistencia a los Antibióticos y sus posteriores colonias seria Resistentes en un alto nivel. A los antibióticos Utilizados. Aun con Exámenes Clínicos Especializados, como es en Antibiograma Completo.

El encontrar Antibióticos que eliminen a estas Bacterias es realizar Múltiples Pruebas donde el combinar los Antibióticos Existentes; hasta encontrar que combinaciones las puede exterminar.

El género *Klebsiella*; se diferencia de *Enterobacter* y de *Serratia*, por ciertas pruebas bioquímicas. Porque son inmóviles y forman grandes colonias en las mucosas, en contraste con los dos últimos géneros citados que no lo hacen.

Predisposición en paciente que tienen; Diabetes Mellitus o tiene Resistencia a la Insulina y Padecer de algún Grado de Enfermedad Broncopulmonar Obstructiva Crónica. Causa a menudo Infecciones Urinarias y/o pulmonares.

Staphylococcus

La presencia de *Staphylococcus epidermidis* en el cultivo de esperma parece indicar la existencia de una prostatitis o epididimitis. Habría que repetir el cultivo para confirmar la presencia del germen y descartar que se trate de una contaminación del cultivo.

La infección de la vía urinaria puede afectar a varios de sus componentes, como el riñón (pielonefritis) o la próstata (prostatitis). Al afectarse la pared de la vía urinaria puede producirse una inflamación de esta que produzca un sangrado en la orina (hematuria).

La Chlamydia trachomatis

Tiene una elevada incidencia en la infertilidad masculina.⁴ La población masculina es el reservorio natural de esta bacteria, pero pocas veces provoca síntomas en ellos, de aquí el término infección "silente", que si no es tratada, puede avanzar y causar graves problemas reproductivos y de salud, con consecuencias a corto y largo plazo.

La Klebsiella pneumoníae

Es un organismo bacteriano responsable de causar neumonía, sepsis e infección genito urinario (TGU). Este organismo vive en el tracto respiratorio superior y gastrointestinal de los individuos sanos.

Causa infección del tracto urinario cuando se introduce por contigüidad en la región traído por la materia fecal que lo contiene¹³.

El *Citrobacter spp.*

El género *Citrobacter* es un grupo de bacilos Gram (-) forman el grupo coliforme de bacterias entéricas o conocidas también como enterobacterias, aerobios encontrados como flora saprófita en el tracto intestinal de animales y humanos; son microorganismos ubicuos que son causa frecuente de infecciones importantes, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos. Es uno de los patógenos más importantes en unidades de cuidados neonatales hospitalarios¹¹.

En los seres humanos producen, por ejemplo, infecciones urinarias.

Es un tipo de bacteria que puede hallarse en el agua, las heces y los intestinos. Cumple un rol importante en la digestión.

El asearse de atrás hacia adelante luego de mover el intestino o el acto sexual normal pueden ser causa de infecciones por esta bacteria.

Su porción relativa de cepas patógenas y no patógenas es desconocida. Puede poseer el gen AmpC de resistencia, siendo capaz de resistir a antibióticos β .Lactámicos como las cefalosporinas de primera a la tercera generación¹³.

2.2.1.3 HONGOS

Cándida es un hongo diploide asexual, normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina, se encuentra en las membranas superficiales y en las mucosas, en cantidades pequeñas es indemne pero cuando su crecimiento aumenta drásticamente ocasiona diversas patologías en el hombre.

La candidiasis suele encontrarse disputando el primer o segundo lugar en el diagnóstico diferencial de las diferentes causas de infecciones seminales. Candidiasis es una enfermedad inflamatoria, producida por diferentes especies de Cándida, debida

generalmente a condiciones fisiológicas alteradas que determinan disminución de la inmunidad local y se caracteriza principalmente por la presencia de flujo blanco, inodoro como “leche cortada”, prurito, sensación de quemadura, eritema y edema⁹.

2.2.1.4 PARÁSITOS

La trichomonosis.- es una forma común de vaginitis que afecta tanto a adolescentes como a adultos, causada por un parásito unicelular llamado *Trichomonas vaginalis*, el cual fue descrito por primera vez en 1836 por el francés Donné, quien lo encontró en secreciones vaginales y uretrales.

La trichomonosis se transmite a través de las relaciones sexuales, de modo que se considera una infección de transmisión sexual¹⁰.

T. vaginalis es un protozoo de forma ovoide o piriforme que mide de 7 – 30 µm de longitud y de 5 – 15 de ancho. El trofozoito se caracteriza por presentar cuatro flagelos dispuestos de dos en dos en la parte anterior, y un flagelo recurrente que forma la membrana ondulante, que no llega a la parte posterior del cuerpo.

El flagelo libre y la membrana ondulante le confieren al parásito la motilidad.

La tricomoniasis es una infección de transmisión sexual causada por el protozoario flagelado *Trichomonas vaginalis*. El organismo se reconoce por el movimiento rápido, de atrás hacia adelante, generado por cuatro flagelos anteriores y la membrana ondulante¹⁰.

Se adhiere al epitelio escamoso en la zona de contacto con la célula del hospedador, la prevalencia de la tricomoniasis en grupos de población específicos se ha correlacionado con los niveles de actividad sexual¹⁰.

La prevalencia en hombres es baja, explicable por la proporción alta de casos asintomáticos. El flujo vaginal, el prurito, la dispareunia y la disuria se han registrado

en 50% a 75% de las mujeres diagnosticadas con infecciones vaginales a causa de este parásito.

Las hemorragias puntiformes del cervix suelen darle aspecto fresiforme, el diagnóstico definitivo se efectúa con la demostración microscópica de *Trichomonas*.

Casi todas las cepas responden al tratamiento con metronidazol por vía oral, 2.0 g, dosis única ¹⁰.

2.2.1.5 VIRUS

En biología, un virus es un agente infeccioso microscópico que solo puede multiplicarse dentro de las células de otros organismos.

Los virus infectan todos los tipos de organismos, desde animales y plantas, hasta bacterias, los virus son demasiado pequeños para poder ser observados con la ayuda de un microscopio óptico. Papiloma virus humano siglas de VPH^{2.4.3}.

Son virus de doble cadena con un genoma de aproximadamente 8.000 pares de bases, en base a su asociación con el Cáncer Cervical y las lesiones precursoras, los VPH pueden agruparse en tipos de alto y bajo riesgo.

Desde el punto de vista de las ITS, los más importantes son los tipos 6 y 11 asociados al condiloma acuminado y los tipos 16 y 18 asociados al Carcinoma Cervical^{2.4.3}.

Los VPH adquiridos sexualmente pueden producir varios tipos de lesiones dependiendo del tipo de VPH involucrado, entre los virus también encontramos al causante del Herpes, el Herpes Genital es una infección de transmisión sexual altamente contagiosa cuyo agente causal es el virus herpes del tipo ^{2.4.3}

2.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE

2.2.2.1 INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES

ANATOMÍA

El aparato reproductor masculino está formado por varios órganos que según su función se podrían clasificar en:

Dos testículos: tienen una doble función, por una parte producen los espermatozoides mediante un proceso llamado espermatogénesis y por otra ejercen una importante regulación endocrina, tanto a nivel reproductor como sobre otros órganos y funciones de nuestro cuerpo.

Las vías seminales, que también son dobles hasta su conexión con la próstata: transportan los espermatozoides a lo largo del sistema reproductor^{2.4.3}.

Las glándulas accesorias: aportan una serie de sustancias vitales para la función reproductora porque forman el líquido seminal, y además tienen una función nutritiva o reguladora.

El pene: deposita el semen en la vagina. El líquido seminal es una sustancia secretada por el aparato reproductor masculino. Esta sustancia contiene a los espermatozoides o gametos masculinos que tienen como objetivo fecundar el óvulo de la mujer^{2.4.3}.

El líquido seminal es una mezcla de varios fluidos. Los espermatozoides permanecen vivos en esta mezcla durante un período corto.

Puede tratarse de una primo infección, y puede haber una infección asociada junto las vías urinarias, es decir, que ocurra primero en la uretra y después en la próstata, vesículas seminales, hasta poder llegar a los testículos^{2.4.3}.

Vías seminales: Las vías seminales están constituidas por: tubos rectos, rete testis, conductos eferentes, epidídimo, conductos deferentes, ampolla deferencial y el conducto eyaculador.

Los extremos terminales de los túbulos seminíferos, revestidos sólo por células de Sertoli, se estrechan y forman los tubos rectos, los cuales unen el túbulo seminífero con la rete testis. La rete testis es una red de delicados túbulos, situado en el hilio del testículo, mediastino testicular, que lleva los espermatozoides desde los túbulos seminíferos a los vasos eferentes^{2.4.3}.

En la rete testis el líquido seminal se reabsorbe, concentrando los espermatozoides. Los conductos eferentes unen la rete testis con la cabeza del epidídimo. La luz de los tubos se reviste de dos tipos celulares:

Células ciliadas, altas: arrastran el contenido celular en dirección al epidídimo.

Células no ciliadas, bajas: realizan procesos de endocitosis. El epidídimo es un conducto altamente contorneado, entre el testículo y vaso deferente. Tiene forma de media luna, y se divide en cabeza, cuerpo y cola^{2.4.3}.

El epidídimo está tapizado por: Un epitelio pseudoestratificado que produce la absorción de casi el 90% de líquido testicular. Por la musculatura lisa que produce movimientos peristálticos para transportar los espermatozoides.

Aparte de las funciones de transporte y servir de vía, el epidídimo: Produce la maduración de los espermatozoides y la concentración de estos al reabsorber líquido. Esta absorción se produce a nivel de la cabeza del epidídimo.

Aumenta la movilidad de los espermatozoides a través de la Proteína de avance de movilidad.

Destruye los espermatozoides tras larga abstinencia sexual. Por ejemplo en vasectomías. La vía seminal continúa con los conductos deferentes. Estos últimos transportarán el semen durante el coito desde la cola del epidídimo hasta la ampolla deferencial.

INFECCIONES MÁS FRECUENTES

Epidiminitis:

Es la infección del epidídimo que se manifiesta con fiebre y dolor relacionado y reflejado en la ingle (muy molesto al caminar).

Se presenta en el varón joven y causada por dos microorganismos dependiendo de la edad: en menores de 40 años encontramos la *Clamidia trachomatis*; y mayor de 40 años es causado por *E. Coli*.

El espécimen ideal depende del tipo de la bacteria, recurriendo normalmente al sedimento urinario, orina para hacer cultivo y el semen para aislar el germen (todos ellos sí es para *E. Coli*; pero para Clamydias no).

Como las Clamydias son parásitos internos obligados, no aparecen en el sedimento, ni en orina, hay que recurrir a los cultivos celulares. Sin embargo si en los especimenes hay leucocitos, podemos decir que si hay 5 leucocitos por campo (con el sedimento) y hasta 10 leucocitos por mililitro de orina ²¹.

Una técnica a la que hay que recurrir (es muy doloroso) se pasa a una punción en el epidídimo. El tratamiento es de 6-8 semanas y son antibióticos del tipo del CIPROFLOXACINO y OFLOXACINO, por su capacidad para alcanzar el epidídimo (de las familias de las quinolonas). Pasado el tratamiento se recurre nuevamente a una toma del espécimen.

Prostatitis

Se incluyen varios tipos de sintomatologías, es decir, hay prostatitis aguda bacteriana, prostatitis crónica bacteriana, prostatitis no bacteriana y prostatodinia. El paciente tiene fiebre y tiene dolor sacro-lumbar, y también hay un síndrome miccional.

Desde el punto de vista clínico para diferenciar la aguda del resto, es mediante el tacto rectal. Para el diagnóstico recurrimos al fraccionamiento de la orina.

Se toma la primera porción de la micción, otra porción del chorro de la mitad de la micción. Se hace posteriormente un masaje prostático y se recoge la secreción prostática, y por último se toma una porción de la orina final. Con estas 4 muestras se hace siembras en medios de cultivo.

Si hay bacterias en la secreción prostática y última porción de la orina, que no existe en la 1ª y 2ª porción de la orina, podemos pensar que la prostatitis es bacteriana causada por *Staphylococcus*, *E.coli* y que seguramente es aguda. Si en las cuatro placas hay, pero en la 3ª y 4ª placa hay más (orden de magnitud superior) e indica prostatitis por bacterias de tipo agudo.

La prostatitis crónica se da cuando las bacterias al colonizar los conductos superiores, forman un biofilm, formado por carbohidratos que facilita la viabilidad y mantenimiento de los microorganismos, y con el tiempo la bacteria excreta sus propios exopolisacáridos que tienden a fijar más a la bacteria.

La bacteria se replica muy poco a poco, y va dando impulsos antigénicos que es lo que provoca la cronicidad de la prostatitis.

En la prostatitis aguda se puede recurrir a tratamientos con Aminoglicósidos, teniendo siempre en cuenta que son tóxicos; cefalosporinas de 3ª generación y Monolactámicos.

Posteriormente se pasa a antibióticos que difundan bien por la membrana lipoproteica prostática, y además que se disocien bien en los medios ácidos, como por ejemplo las Quinolonas aunque también podemos recurrir a la pareja Sulfamida y Trimetoprim.

Cuando la prostatitis es crónica, pasamos a la familia de las tetraciclinas (DOXICICLINA Y MINOCICLINA) y Norfloxacino. El tratamiento dura de 6-8 semanas. Cuando termina el tratamiento se hace de nuevo un cultivo fraccionado de la orina. También si la infección es muy elevada se recurre a la punción prostática de los antibióticos.

Muchos casos de prostatitis crónicas podrían estar relacionados por *Clamydias* y *Micoplasmas*.

2.2.2.2 INFECCIONES EN EL SEMEN

Infecciones en el semen por *Micoplasma* y *Ureaplasma*

Los *Micoplasmas* genitales son considerados patógenos humanos de relevante importancia, como agentes de transmisión sexual. Están implicados en una gran variedad de infecciones en el hombre, tales como uretritis, prostatitis y otros procesos inflamatorios que conducen a la infertilidad.¹⁶

Aunque la importancia clínica de estos efectos en la fertilidad masculina se discute todavía, sí es seguro que los procesos inflamatorios que se derivan pueden afectar el proceso normal de espermatogénesis, la cantidad y calidad de los espermatozoides.

Las principales especies dentro de los géneros *Micoplasma* y *Ureaplasma* responsables de infecciones en el semen, asociadas a infecciones del tracto reproductor masculino y fallos en la reproducción son: *Micoplasma hominis* (Mh), *Micoplasma genitalium* (Mg) y *Ureaplasma urealitycum* (Uu), respectivamente¹⁷⁻¹⁹.

Existen otras especies de micoplasmas con menor incidencia en los trastornos reproductivos, como es el caso del *Micoplasma spermatophilum* aislado en espermatozoides humanos y cerviz,¹⁰ y el *Ureaplasma parvum*, encontrado en el semen de hombres con prostatitis crónica.¹¹

El Mg provoca enfermedades urogenitales en el hombre como agente de transmisión sexual, y estudios en semen muestran la unión de este al espermatozoide humano, afectando la movilidad espermática, requisito esencial para la fertilización.¹²

El *Ureaplasma urealitycum* es considerado uno de los patógenos más comunes del tracto genitourinario, pues provoca daño directo al espermatozoide¹² y decrecimiento de los niveles de factores inmunosupresores en el plasma seminal, además, cambios de pH y prolongación de la liquefacción del semen, lo cual conduce a la declinación de la calidad espermática.¹³

Estudios realizados para investigar la relación entre la infección por *Ureaplasma urealitycum* y la calidad del semen, demuestran la influencia negativa de este patógeno en la calidad seminal,⁴

Como en otros casos, la infección por *Ureaplasma urealitycum* estuvo asociada con la alta viscosidad del semen y baja concentración de espermatozoides; sin embargo, la infección no afectó significativamente los índices de calidad de otras muestras de semen implicadas en el estudio.⁵

Las infecciones por *Ureaplasma urealitycum* en semen, que con frecuencia no son diagnosticadas porque en la mayoría de los casos son asintomáticas, son unas de las más comunes que se adquieren por contacto sexual, por lo que el riesgo de infección en la mujer fertilizada puede traer consecuencias graves, por invasión de este microorganismo en el endometrio, que provocaría no solo fallos en la implantación, sino aborto espontáneo y nacimiento pretérmino.^{6,7}

Se ha publicado también la presencia de *Ureaplasma urealitycum* genital en semen de hombres cuya infertilidad es relacionada con varicocele.⁸

Uno de los aspectos a tener en cuenta en el tratamiento de infecciones por micoplasmas genitales, es el uso indiscriminado de antibióticos, debido a la resistencia natural que

poseen estas bacterias a todos los antibióticos betalactámicos, por su carencia de pared celular.

Recientemente se ha publicado un estudio, sobre el comportamiento antimicrobiano de susceptibilidad y resistencia de aislamientos clínicos de micoplasmas genitales (*Mycoplasma genitalium* y *Ureaplasma urealitycum*), para evaluar la evolución de su resistencia en un período determinado,⁹ de lo que se deduce que tener una información microbiológica en este sentido es de vital importancia para recomendar la terapéutica más adecuada.

Los tratamientos inadecuados pueden disminuir los síntomas sin curar la infección, con una alta probabilidad de transmitir la enfermedad y de que ocurran complicaciones secundarias e infertilidad.

Infecciones en el semen por *Chlamydia trachomatis*

La infección causada por la bacteria *Chlamydia trachomatis* tiene una elevada incidencia en la infertilidad masculina.¹⁰

La población masculina es el reservorio natural de esta bacteria, pero pocas veces provoca síntomas en ellos, de aquí el término infección "silente", que si no es tratada, puede avanzar y causar graves problemas reproductivos y de salud, con consecuencias a corto y largo plazo.

La infección por esta bacteria afecta a 1 de cada 10 hombres sexualmente activos, y afecta la concentración de los espermatozoides, su movilidad y genera cambios en su morfología. Con respecto a esto se ha analizado la influencia de esta bacteria en la calidad y morfología del semen, estudiando muestras positivas y negativas a chlamydia, y se concluye que todos los parámetros de calidad del semen, así como la morfología, son muy inferiores en el grupo chlamydia positiva comparado con el grupo control.¹⁴

Esta bacteria puede causar inflamación en los testículos y el escroto, lo cual incide en la calidad del semen, especialmente en la movilidad de los espermatozoides.¹²

Estudios *in vitro* con incubando de espermatozoides con esta bacteria muestran una declinación significativa en el número de espermatozoides móviles, e incluso, muerte prematura de estos,¹³ lo que pudiera contribuir al fallo de las técnicas *in vitro*.¹⁴ Se recomienda introducir medidas de prevención y control de esta bacteria, en ambos miembros de la pareja que se consultan por infertilidad.¹⁵

Infecciones en el semen por *Staphylococcus*.

Las bacterias del género *Staphylococcus* son microorganismos ubicuos difíciles de eliminar que colonizan ambientes muy dispares formando parte de la microbiota habitual de la piel.

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo aerobio o anaerobio facultativo que produce fermentación láctica y es catalasa y coagulasa positivo.

Posee numerosos factores de virulencia, en su mayoría componentes de la pared celular, y una variedad de exoproteínas que facilitan la colonización de nuevos hábitats. Estas propiedades, hacen que los estafilococos sean la causa de numerosas infecciones en hombres, que van desde afecciones superficiales de la piel a patologías severas como: shock séptico y desórdenes autoinmunes.

De gran preocupación, es el hecho de que *S. aureus* sea un importante agente de infecciones nosocomiales fulminantes. La mayoría de las cepas de estafilococos son productoras de enzimas (nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasas) y citotoxinas que contribuyen a transformar los tejidos del hospedador en substrato para su crecimiento y desarrollo.

Infecciones en el semen por virus

Los virus, dentro de las ITS, siempre han preocupado a los equipos de trabajo en tecnología de reproducción asistida, ya que el semen solo, independientemente de cualquier contacto sexual, puede transmitir virus.

Por esta razón, debido al incremento de las ITS por virus en semen, se han hecho adaptaciones en la tecnología, no solo de preparación de esperma, sino en la implantación de nuevos métodos de detección viral adaptados a semen.¹⁶

El Herpes Genital es causado por los virus herpes simple tipo 1 (VHS-1) y herpes simple tipo 2 (VHS-2), aunque el VHS-1, responsable del herpes labial, se transmite a través de secreciones orales, también puede producir herpes genital a través del sexo oral, por lo que ambas cepas de virus pueden transmitirse sexualmente. Las investigaciones epidemiológicas y clínicas han enfatizado el rol de los hombres en la transmisión viral, pero a pesar de esto, muchas veces continúan ausentes de los mensajes preventivos dirigidos a disminuir las infecciones, y los beneficios del diagnóstico y la atención, por eso la importancia de realizar investigaciones para determinar la presencia de virus en semen en los servicios de Reproducción Asistida⁸.

La posibilidad de infección del semen humano por el VHS-2 está bien establecida, y la transmisión viral por vía sexual ha sido objeto de muchos estudios, aunque muchas veces no son tomados en cuenta. Los tratamientos de fertilidad asistida aumentan el riesgo de infección viral,¹⁷ para lo cual necesitamos saber si los virus están presentes en el tracto genital masculino, en el fluido seminal o en los espermatozoides.

Aunque está demostrado que los virus están presentes en el fluido seminal, su presencia en los espermatozoides no debe ser excluida, por lo que debe tomarse especial cuidado en los trabajos de inseminación artificial, en los que al someter el semen completo a lavados por centrifugación y selección de espermatozoides mediante la técnica de sobrenado (*swim-up*) y los gradientes de Percoll (*swim-down*), pudiera pensarse erróneamente que al reducir significativamente el riesgo de transmisión viral por estos métodos, la infección esté eliminada.⁸

El VHS-2, agente causal de una de las ITS más comunes e incurables en individuos sexualmente activos, es considerada actualmente un problema de salud,¹⁹ a pesar de los pocos estudios que se han realizado en cuanto a prevalencia y factores asociados con la infección.^{10,11} Este virus tiene un efecto potencial como cofactor en la adquisición, transmisión y posible progresión del VIH, por lo que se recomienda extrema precaución en la selección de los espermatozoides del fluido seminal en los procesos de fertilización *in vitro*, especialmente por el riesgo que corren los bancos de semen, ya que se ha demostrado que el VHS 2 sobrevive a los procesos de congelación.¹²

La infección por el *Citomegalovirus humano* (CMVH)

Como posible causa de enfermedad del sistema genital masculino, afecta la fertilidad de los hombres,¹³ y se ha publicado también su transmisión sexual a través del semen de hombres infértiles.¹⁴ Este virus es la causa más común de transmisión congénita, que conduce a enfermedades fetales y neonatales serias. Se publica su presencia en el semen de individuos asociados frecuentemente a inmunodeficiencias.¹⁶ Los trabajos de conservación por congelación no protegen a los espermatozoides del virus, por lo que reiteramos la necesidad de tener precaución al utilizar semen no chequeado en trabajos de inseminación artificial.⁵

Los virus de la hepatitis, a pesar de que afectan directamente al hígado, circulan por el semen y la saliva, por lo que son considerados también ITS.

Estudios de calidad del semen en pacientes con infección crónica de virus de hepatitis B (VHB) y virus de hepatitis C (VHC), mostraron que aunque pudiera no afectarse la calidad seminal, los valores de apoptosis y necrosis fueron altamente significativos, con alteraciones en la espermatogénesis, lo cual indica que el índice de fertilidad en estos pacientes infectados fue significativamente más bajo comparados con los controles. Estos virus pueden ser transmitidos de la madre al niño, por lo que también debe ser excluida su presencia durante los procesos de reproducción asistida.¹⁰

Existen otras enfermedades graves ligadas a la actividad sexual, sobre todo por el número de compañeros sexuales y por ciertas prácticas sexuales que aumentan el riesgo de que la mujer desarrolle cáncer cervical, tal es el caso de ciertos tipos del virus del papiloma humano (VPH), específicamente el tipo 16, que puede transmitirse sexualmente, a los cuales se les está prestando especial atención en la reproducción asistida. En este caso, al igual que otras ITS, las mujeres son más susceptibles a contagiarse, por lo que la atención médica aún permanece limitada a este género. Al respecto un estudio reciente del Boletín de la OMS publica, que cada año, 20 millones de nuevas personas resultan infectadas con herpes genital,² por lo que debe considerarse su estudio en hombres, por el rol de estos en la transmisión sexual del virus.¹³

2.2. 3 MEDIOS DE CULTIVO

2.2.3.1 SANGRE AGAR BASE

Medio para propósitos generales, para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos.

Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemólisis. También, este medio de cultivo, puede utilizarse como medio base para preparar el medio agar chocolate.

Fundamento

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agregado de sangre al medio de cultivo, en concentración final de 5-10 %, aporta nutrientes para el crecimiento bacteriano, y permite detectar hemólisis.

Fórmula (en gramos por litro)	
Infusión de músculo de corazón	375.0
Peptona	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0
pH final: 7.3 ± 0.2	

Instrucciones

Suspender 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto. Esterilizar 20 minutos a 121°C. Enfriar a 45-50°C agregar sangre desfibrinada al 5%. Homogeneizar y distribuir en placas.

Preparación de la placa de Agar Sangre: añadir en forma aséptica un 5% de sangre estéril desfibrinada a temperatura ambiente, el agar debe estar a 45°C.

Preparación de Agar Chocolate: después de añadir la sangre y agitando frecuentemente se mantiene el medio de cultivo a 80°C por 10 minutos hasta que adquiere un color pardo chocolatado.

Siembra

Por inoculación directa del material en estudio, sobre la superficie del medio de cultivo.

Incubación

El tiempo, temperatura y atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera aislar.

Resultados

Microorganismos	Crecimiento	Hemólisis
E. coli ATCC 25922	Abundante	--
S. aureus ATCC 25923	Abundante	Beta
S. pyogenes ATCC 19615	Abundante	Beta
S. pneumoniae ATCC 6305	Abundante	Alfa

S. pneumoniae ATCC 49619	Abundante	Alfa
--------------------------	-----------	------

Limitaciones

-Las reacciones hemolíticas de muchos microorganismos son diferentes al usar sangre de caballo respecto a la sangre de carnero, tal es el caso de algunas cepas de estreptococos grupo D, que producen beta hemólisis en el agar suplementado con sangre de caballo pero no en agar suplementado con sangre de carnero, y son mal clasificados como Estreptococos Grupo A al usar sangre de caballo.

Características del medio

Medio preparado: ámbar. Medio preparado con 5% de sangre de carnero: rojo cereza.

Almacenamiento

Medio deshidratado: a 10-35 °C.

Medio preparado: a 2-8 °C.

2.2. 3.2 MAC CONKEY AGAR.

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo.

Fundamento

En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva.

Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.

Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras.

Fórmula (en gramos por litro)		1.1 Instrucciones
Peptona	17.0	Suspender 50 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar suavemente y hervir 1 a 2 minutos hasta disolver. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
Pluripeptona	3.0	
Lactosa	10.0	
Mezcla de sales biliares	1.5	
Cloruro de sodio	5.0	
Agar	13.5	
Rojo neutro	0.03	
Cristal violeta	0.001	
pH final: 7.1 ± 0.2		

Siembra

- Sembrar en superficie.
- Utilizando la técnica de Pour Plate: sembrar 1 ml de muestra y agregar aproximadamente 15 ml de medio de cultivo fundido y enfriado a 45-50 °C.

Incubación

Durante 18-48 horas, a 35-37 °C, en atmósfera aeróbica

Resultados

Microorganismos	Colonias

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rojas con halo turbio
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Rosadas mucosas
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Incoloras, transparentes
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Incoloras, transparentes
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Incoloras, transparentes
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Diminutas, incoloras, opacas

Características del medio

Medio preparado: rojo púrpura

Almacenamiento:

Medio deshidratado: a 10-35 °C.

Medio preparado: a 2-8 °C.

2.3 HIPÓTESIS Ó SUPUESTOS

Hi: Las bacterias Gram negativas son causantes de la mayoría de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acuden al Laboratorio Central Puyo.

Ho: Las bacterias Gram negativas no son causantes de la mayoría de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acuden al Laboratorio Central Puyo.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación que se realizó fue de carácter descriptivo porque a través de los resultados obtenidos se determinó la etiología de las infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acudieron al Laboratorio Central Puyo, durante el periodo Octubre – Noviembre del 2015 de los cuales se estableció los patrones epidemiológicos del área a la que pertenecen los pacientes.

También se realizó una investigación de tipo experimental porque se realizó los análisis pertinentes en el laboratorio, en la población determinada.

Tuvo carácter de correlacional porque busca la relación de los niveles de Microorganismos Patógenas y la etiología de la infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acuden al Laboratorio Central Puyo.

Modalidad básica de la investigación

La presente investigación fue:

De Laboratorio: Porque se realizó exámenes para determinar los microorganismos patógenos y la etiología de la infección mediante técnicas aplicadas en el área de trabajo.

Documental: En virtud que se apoyó la investigación en libros, revistas, libros de diferentes autores e internet con el propósito de ampliar y profundizar en el tema, la misma que ha permitido sustentar la parte científica de este trabajo de investigación.

De campo:

Se tomó contacto directo en hombres de 20 a 40 años con infecciones de vías seminales que acuden al Laboratorio Central Puyo durante el periodo Octubre – Noviembre del 2015 para obtener información de acuerdo con los objetivos del proyecto.

3.2. SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

Esta investigación recopiló y analizó la información referente al problema del área de estudio que fue en la ciudad de Puyo.

Delimitación espacial:

En el Laboratorio Central Puyo localizado en la zona del Oriente del Ecuador, ubicado en la parte centro-occidental de la Provincia de Pastaza, se realizó el procesamiento de las muestras que consistió en la tinción, siembra y el antibiograma.

Delimitación temporal:

Octubre – Noviembre del 2015

3.3 POBLACIÓN

Al ser la muestra finita, comprendió a todos los pacientes hombres de 20 a 40 años con infecciones de vías seminales que se realizaron un cultivo del semen durante el periodo Octubre – Noviembre del 2015 en que acuden al Laboratorio Central Puyo.

3.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**Los criterios de inclusión**

- Todo hombres de 20 a 40 años con infecciones de vías seminales que acudan al Laboratorio Central Puyo.
- Brindar el consentimiento informado.
- No estén cumpliendo algún tratamiento antibiótico.

Los criterios de exclusión

- Pacientes que se hayan sometido a algún tratamiento previo con antibióticos u automedicación
- No brindar el consentimiento informado

3.5 Diseño muestral

Al ser la población finita, la muestra comprendió a los 30 pacientes que se realizaron un cultivo de semen durante el periodo Octubre – Noviembre del 2015.

3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE: Identificación de Bacterias patógenas

Conceptualización	Dimensión y Variables	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas	Instrumentos
Bacterias capaces de causar enfermedades en el ser humano, altamente transmisibles pueden ser bacterias Gram negativas o Gram positivas .	Bacterias	Gram negativas <i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter spp.</i> Gram positivas <i>Staphylococcus spp.</i>	¿Qué tipo de bacteria es el más frecuente en las infecciones seminales?	Observación Fresco-Gram Cultivo de secreción de vías seminales. Pruebas bioquímicas	Cuaderno de notas Protocolo de trabajo

Elaborado por: La investigadora

3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE: Infecciones de vías Seminales

Conceptualización	Dimensión y Variables	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas	Instrumentos
<p>Infecciones frecuentes en hombres que se caracterizan por producir cambios en el aspecto del líquido seminal, además causa prurito, secreción, mal olor.</p>	<p>Secreción</p> <p>Prurito</p>	<p>Secreción: blanco amarillenta aspecto de leche cortada.</p> <p>Flujo aumentado, purulento.</p> <p>Secreción fétida, olor característico a pescado.</p> <p>Inflamación</p>	<p>¿Ha padecido una infección de vías seminales?</p>	<p>Observaciones</p>	<p>Cuaderno de notas</p>

Elaborado por: La investigadora

3.7 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Para la recolección de la información de los datos que fueron necesarios para la elaboración de este proyecto de investigación se procedió del siguiente modo:

1. Se verificó los recursos humanos y económicos que me faciliten para realizar el estudio.

Se presentó una solicitud al director Laboratorio Central Puyo del durante el periodo Octubre – Noviembre del 2015 para que nos extienda el permiso de poder proceder con la ejecución del proyecto de investigación.

2. Después de la aceptación de la solicitud se procedió a seleccionar la población para el estudio correspondiente.

3. Se incluyeron 40 hombres de 20 a 40 años de edad que acudieron al Laboratorio Central Puyo durante el periodo de Octubre – Noviembre del 2015, con diagnóstico clínico de Infección de Vías Seminales.

Se procedió a la toma de la muestra

Recolección de muestras

Instrucciones claras detalladas por escrito.

- Lugar de recogida.
- Forma de recoger la muestra.
- Contenedores de recolección.
- Medidas higiénicas.
- Abstinencia.
- Tiempo recogida-entrega laboratorio.
- Normas de transporte al laboratorio.
- Medicación.

Forma de recogida

En cuanto a la forma de recoger la muestra el manual de la OMS es muy claro:

- Preferiblemente por masturbación.
- Nunca por coitus interruptus, ya que se puede perder la primera fracción de la muestra, se puede contaminar la muestra y se puede afectar la movilidad por el pH ácido de la vagina.
- El preservativo sólo se podrá usar cuando haya imposibilidad de realizarlo por masturbación. Pero no se puede usar un preservativo cualquiera sino preservativos especiales que hay en el mercado, que no llevan espermicidas.
- Además, hay que dar una detallada información al paciente acerca de: la forma de recogida, cierre y transporte del contenedor.
- Abstinencia sexual La OMS recomienda una abstinencia entre dos y siete días ¹².

Los contenedores

Los contenedores de recogida que utilizemos deben ser de cristal o plástico. Además deben estar testados para comprobar que el material no es tóxico. Antes de la recogida de la muestra hay que mantenerlos atemperados entre 20-37°C.

- Cuando la muestra es entregada debe ser rotulada: con nombre y apellidos, y con el código de laboratorio.
- Inmediatamente después debe ser guardada en estufa a 37°C.
- Además se indaga al paciente lo siguiente:
- Si ha tomado alguna medicación en fechas anteriores próximas.
- El periodo de abstinencia sexual.
- Si ha recogido la muestra completa o por el contrario hay pérdida de alguna fracción.
- Asegurarnos que sólo ha recogido una eyaculación.
- Si es para análisis microbiológico corroborar que ha cumplido las normas de higiene (lavado de manos y genitales y orinar previamente).
- Hora en que ha recogido la muestra y por supuesto la hora de entrega al laboratorio.

- La forma de recogida.

Análisis microbiológico

En el caso de que la muestra vaya a usarse para análisis microbiológico se debe tener en cuenta que:

- Todo el material debe ser estéril.
- No se puede exceder más de tres horas desde la recogida hasta el inicio del cultivo.
- Se debe seguir unas normas higiénicas para este tipo de recogidas:
- Descartar la orina para que limpie la uretra de gérmenes antes de la toma de muestra de semen;
- Lavar manos con jabón y agua, enjuagar los genitales detalladamente con agua y secar.
- Recoger la muestra.
- Transportarla a una temperatura entre 20-37°C.
- Protegerla de la luz.
- Realizar el análisis microbiológico
- Una vez entregada la muestra en el laboratorio
- Se procede a identificarla, con nombre y dos apellidos, así como un código de trabajo del laboratorio
- Se coloca inmediatamente en estufa, a 37°C.
- Si es posible además es sometida a rotación, usando para ello un agitador orbital colocado dentro de la estufa.
- Conseguiremos así una temperatura y homogenización de la muestra óptimas, lo cual deberemos de mantenerlo a lo largo de todo el análisis¹².

3.7.1 EXAMEN EN FRESCO

Fundamento

El examen en fresco es uno de los procedimientos más simples para observar cualquier microorganismo. El examen en fresco tiene por finalidad apreciar el tamaño y movimiento de las bacterias. Este estudio se realizó mientras las bacterias se encuentran viables, en cultivos líquidos jóvenes o en muestras biológicas recién obtenidas.

Materiales

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microscopio óptico
- Solución salina

Técnica

1. Etiquetar 1 placas portaobjetos con las numeraciones respectivas.
2. Se realiza el examen en fresco, colocar una gota de solución salina en cada placa y con la ayuda del asa obtener una colonia el cual se debe mezclar con la solución salina, cubrimos cada placa con sus respectivas placas cubreobjetos.
3. Observar en el microscopio óptico con el lente objetivo 40x.
4. Procedemos a sembrar
5. Luego de 24 horas procedemos a la identificación de la colonia mediante el Gram y prueba bioquímica y posterior se realizó el antibiograma.
6. Anotar las observaciones.

Interpretación de resultados

Comprobación de la motilidad de los microorganismos¹².

3.7.2 TINCIÓN DE GRAM

Fundamento

De gran importancia en Microbiología porque permitió diferenciar dos grandes grupos de bacterias (Gram positivos y Gram negativos), según se comporten ante esta tinción.

El fundamento radica en la diferente estructura de la pared celular de ambos grupos: las bacterias Gram-positivas tienen una gruesa capa de peptidoglicano en su pared, mientras que las bacterias Gram-negativas tienen una capa de peptidoglicano más fina y una capa lipopolisacáridica externa. Tras la tinción con el primer colorante (Cristal violeta) y lugol se efectuó un lavado con agua corriente que arrastrará al colorante sólo en las Gram-negativas mientras que en las Gram-positivas el colorante queda retenido y las células permanecerán violetas. Las células Gram-negativas se teñirán después con un colorante de contraste (safranina) para que puedan observarse¹²

Materiales

- Microscopio óptico
- Mechero de Bunsen
- Asa bacteriológica
- Portaobjetos
- Barillas de vidrio (soporte)
- Gasas

Reactivos

- Cristal violeta
- Solución de lugol
- Alcohol acetona

- Safranina
- Aceite de inmersión

Técnica

1. Limpiar el portaobjeto con gasa y encender el mechero.
2. Colocar una pequeña gota de solución salina en el portaobjeto y posteriormente esterilizar el asa bacteriológica.
3. Tomar una pequeña muestra de la cepa y diluirla en el portaobjeto.
4. Dejar que la placa se seque al ambiente.
5. Colocar el portaobjeto sobre un soporte
6. Aplicar sobre el frotis seco y fijo cristal violeta, dejar actuar por un minuto (colorante primario).Lavar con agua corriente.
7. Aplicar el lugol, dejar actuar por un minuto (fijador). Lavar con agua corriente.
8. Aplicar alcohol cetona, dejar actuar por 30 segundos (decolorante). Lavar con agua corriente.
9. Aplicar fucsina básica, deje actuar por un minuto (colorante contraste). Lavar con agua corriente.
10. Dejar que la placa se seque y observar al microscopio con el lente de 100X utilizando aceite de inmersión¹².

Interpretación de resultados

Se analizó:

Morfología: Cocos, cocobacilos, bacilos fusiformes, bacilos, espiroquetas.

Disposición celular bacteriana: racimos, cadenas, pares y tétradas.

Coloración: bacterias color violeta (grampositivos) y bacterias rojas o rosadas (gramnegativos).

3.7.3 CULTIVO

Debe permitir el aislamiento y el recuento cuantitativo de bacterias o Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ml. de los uropatógenos más comunes.

Se sembrará cuantitativamente, generalmente con asa en los siguientes medios en placa: Agar sangre

Agar MacConkey

3.7.4 SIEMBRA EN AGAR SANGRE

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos.

Al ser suplementado con sangre ovina, permitió el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis.

Fundamento

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes.

El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.

El agregado de 5-10 % de sangre estéril, promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis¹².

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Mechero de bunsen
- Tubo que contiene la muestra
- Asa de platino
- Cajas Petri con medio de cultivo solido (Agar sangre).
- Estufa

Técnica de Siembra por estría

Mediante este procedimiento se puede conseguir una buena separación de las colonias y aislarlas fácilmente.

Con el asa previamente esterilizada se obtuvo material para el cultivo.

Esto puede realizarse de varias formas:

1. Se colocó el inóculo, luego se continuó con las estrías. Cuando se quiere obtener colonias muy separadas se puede utilizar dos o tres placas de Petri, para lo cual se repite la operación sin tomar con el asa nuevo material.
2. Se puede dividir la placa de Petri en cuatro cuadrantes; una vez depositado el material en el primero, siguiendo el sentido de las agujas del reloj, se hizo una estría luego en el segundo, tercero y cuarto cuadrante sin cargar nuevamente el asa; en el último cuadrante apareció las colonias aisladas.
3. El inóculo se extendió sobre una pequeña zona de la placa, próxima al borde, se esteriliza el asa y se traza otra estría a partir del depósito y así sucesivamente.
4. Incubar a 37 °C por 24 horas.

TÉCNICA DE SIEMBRA PORESTRÍA

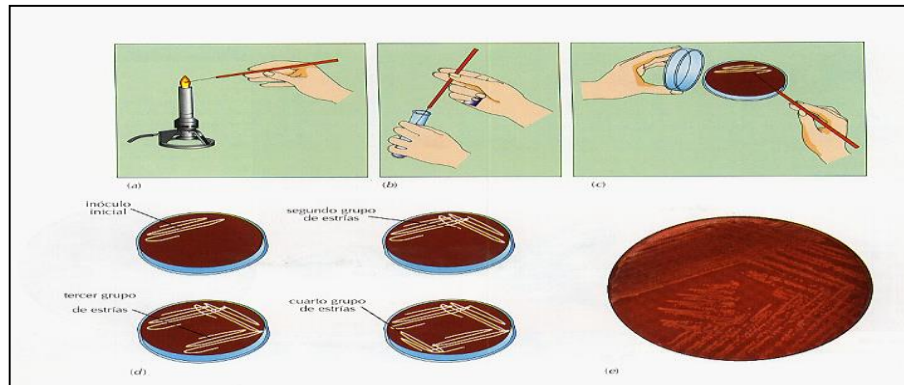


Imagen N° 1 Técnica de siembra por estría.
Fuente: Métodos de siembra. (Jimenez, 2011)

Interpretación de los resultados

Se observó las características de las colonias y las reacciones de hemólisis:

Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos. Se observó un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio. Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos.

Hemólisis beta: lisis total de los glóbulos rojos. Se observó un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.

Hemólisis gamma: ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presentó modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio ¹³.

3.7.5 SIEMBRA EN AGAR MACCONKEY

Este medio se utilizó para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae crece en este medio.

Fundamento

En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva.

Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produjo un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.

Los microorganismos no fermentadores de lactosa produjeron colonias incoloras.

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Mechero de bunsen
- Tubo de Tioglicolato que contiene la muestra
- Asa de platino
- Cajas petril con medio de cultivo solido (Agar MacConkey).
- Estufa

Siembra

1. Con el asa previamente esterilizada se toma material del caldo tioglicolato y se descarga sobre la superficie del medio formando estrías.
- 2 .Incubar a 37 °C por 24 horas.

Interpretación de resultados

Las colonias fermentadoras de lactosa dieron un color rosado por el comportamiento del indicador de pH, de un tamaño pequeño, bordes regulares. Las colonias no fermentadoras de lactosa son incoloras¹³.

3.8. PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS

3.8.1 CITRATO DE SIMONS

Fundamento

El citrato de sodio es una sal del ácido cítrico, un compuesto orgánico simple que constituye uno de los metabolitos del ciclo de los ácidos tricarbónicos. Generalmente los microorganismos que emplean el citrato como única fuente de carbono, utilizaron sales de amonio como única fuente de nitrógeno. El metabolismo del citrato realizado, por algunas bacterias se realizó por el ciclo de Krebs y requiere el desdoblamiento del citrato por la enzima citritasa (citrato-oxalacetato-liasa o citrato desmolasa) en presencia de magnesio o manganeso y de transportadores como citrato permeasas.

La citritasa actuó sobre el citrato produciendo ácido oxalacético y acetato; productos que fueron convertidos enzimáticamente a piruvato y dióxido de carbono. Durante esta reacción el medio comenzó a alcalinizarse por el CO₂ que se genera, el cual se combina con el agua y el sodio para formar Carbonato un producto alcalino, este carbonato dio la alcalinidad que produjo el cambio de color del indicador de pH del medio de verde a azul Prusia oscuro (indicador: azul de bromotimol, amarillo a pH < de 6.0 y azul a pH > de 7.6).

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Mechero de bunsen
- Aguja de platino
- Tubo en pico de flauta del medio Citrato de Simons
- Estufa

Técnica

1. Tomar el cultivo que contenga el Agar inclinado Citrato de Simons y la placa petril que contiene el agar con las colonias de las bacterias aisladas.
2. Flamear la aguja de inocular, quitar los tapones y flamear el borde del tubo.
3. Obtener con la aguja una colonia, se inoculan punzando primero la profundidad del agar hasta 3 mm antes del fondo del agar.
4. Luego hacer una estría en el agar inclinado desde abajo hacia arriba con un movimiento de S a medida que se retira el asa recta de inoculación.
5. Llevar el tubo a la estufa e incubarlo a 37 °C por 24 horas¹³.

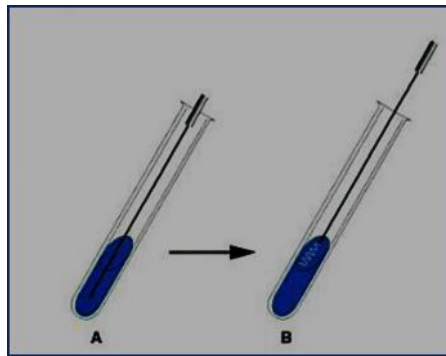


Imagen.- 2 Técnica de inoculación en agar inclinado
Fuente: Diagnostico Microbiológico. (Koneman, 2006)

Interpretación de resultados

El desarrollo de un color azul intenso en 24-48 horas indicó una prueba positiva y revela que el microorganismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato en el medio con la formación de productos alcalinos. La prueba también es positiva en ausencia de color azul si existió crecimiento del microorganismo a lo largo de la estría de inoculación¹³

3.8.2 UREA

Fundamento

Los microorganismos que poseen la enzima Ureasa tienen la capacidad de hidrolizar la urea contenida en el medio con producción de amoníaco, para esta prueba se utilizó el Agar urea de Christensen. El microorganismo en estudio produjo cantidades relativamente grandes a fin de superar el sistema estabilizador del medio y elevar el pH del medio lo suficiente como para virar el indicador (por encima de 8.0)

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Mechero de Bunsen
- Aguja de platino
- Tubo en Urea.
- Estufa

Técnica

1. Tomar el cultivo que contenga el Agar inclinado Hierro Triple Azúcar y la placa petri que contiene el agar con las colonias de las bacterias aisladas.
2. Flamear la aguja de inocular, retirar los tapones y flamear el borde del tubo.
3. Obtener con la aguja una colonia, se inoculan punzando primero la profundidad del agar hasta 3 mm antes del fondo del agar.
4. En seguida hacer una estría en el agar inclinado desde abajo hacia arriba con un movimiento de S a medida que se retira el asa recta de inoculación.
5. Trasladar el tubo a la estufa e incubarlo a 37 °C por 24 horas. (Koneman, 2006)

Interpretación de resultados

Un cambio de color Rojo fucsia indicó que la urea fue hidrolizada por la ureasa del microorganismo. La ausencia de cambio de color indicó una reacción negativa. (Mac Faddin, 2003)

3.8.3 HIERRO TRIPLE AZÚCAR (TSI)

Fundamento

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

Por la fermentación de azúcares, se produjo ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se redujo a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

Fermentación de azúcares: En este medio la concentración de glucosa es la décima parte de la concentración de la lactosa y la sacarosa, lo cual permitió determinar cuándo éste es el único glúcido fermentado. La pequeña cantidad de ácido producido por la fermentación de la glucosa es rápidamente oxidado en el bisel donde hay abundancia de oxígeno, quedando el color rojo correspondiente a un medio alcalino; por el contrario, en el taco donde la tensión de oxígeno es baja, la reacción ácida se mantuvo.

Para que las reacciones antes indicadas ocurran, el medio tiene que estar en un tubo que permita un fácil acceso del aire, por lo que debe estar provisto de un tapón de algodón flojo.

Glucosa: Se observa en el cuerpo del medio, este normalmente es rosado cuando es positivo existe el viraje de color a amarillo.

Lactosa y Sacarosa: se observa en la lengüeta del medio, cambiando el color de rosado a amarillo

Ácido Sulfhídrico: En el medio hierro triple azúcar los indicadores de H_2S es una sal, el sulfato ferroso y otro producto químico, el tiosulfato de sodio. Los dos son indicadores que deben estar presentes. La reacción se da en dos pasos.

PASO 1: El tiosulfato es un intermediario en la reducción de sulfato a H_2S por las bacterias reductoras de sulfatos. La bacteria reacciona con el tiosulfato de sodio en una reacción de reducción que da un sulfito y un sulfato. Debe haber un pH ácido y una fuente de iones H^+ en el medio para que tenga lugar la reducción de tiosulfato.

El H_2S es un gas incoloro; es necesario un segundo indicador para observar la producción del ácido sulfhídrico.

PASO 2: El gas incoloro H_2S reacciona con una sal fuerte de hierro, el sulfato ferroso, para producir un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso metálico.

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

La lectura se registra por medio de cruces (+)¹³.

Gas: correspondiente al CO_2 y H_2 producido por la fermentación de azúcares. Cuando existe presencia de gas este se acumula en el medio llegando a formar burbujas claramente visibles capaz de romper y separar el medio.

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)
- Mechero de bunsen
- Aguja de platino
- Tubo en pico de flauta del medio Hierro Triple Azúcar.
- Estufa

Técnica

1. Tomar el cultivo que contenga el Agar inclinado Hierro Triple Azúcar y la placa petril que contiene el agar con las colonias de las bacterias aisladas.
2. Flamear la aguja de inocular, retirar los tapones y flamear el borde del tubo.
3. Obtener con la aguja una colonia, se inoculan punzando primero la profundidad del agar hasta 3 mm antes del fondo del agar.
4. En seguida hacer una estría en el agar inclinado desde abajo hacia arriba con un movimiento de S a medida que se retira el asa recta de inoculación.

5. Trasladar el tubo a la estufa e incubarlo a 37 °C por 24 horas¹³.

Interpretación de resultados

A: Reacción acida. Color amarillo.

- **A/A:** Fermentación 3 azúcares (glucosa, lactosa y sacarosa)

K: Reacción alcalina. Color roja naranja.

- **K/A:** Fermentación de la glucosa
- **K/K:** No hubo fermentación de los 3 azúcares (glucosa, lactosa y sacarosa).

Burbujas: Producción de gas.

Precipitado negro: Formación H₂S¹³.

3.8.4 MEDIO SULFURO INDOL MOVILIDAD (SIM)

Fundamento

Los elementos de SIM facilitan la determinación de tres actividades por las que se pueden diferenciar las bacterias entéricas. El tiosulfato sódico y el sulfato ferroso de amonio son indicadores de producción de ácido sulfhídrico. El sulfato ferroso de amonio reacciona con gas de H₂S para producir sulfuro ferroso, un precipitado de color negro. La peptona de caseína es rica en triptófano, que determinadas bacterias atacan, lo que da como efecto la producción de indol.

El indol se manifiesta mediante la adición de reactivos químicos subsiguientemente al período de incubación. La detección de motilidad es posible gracias a la naturaleza semisólida del medio. Un crecimiento que se propague hacia el exterior a partir de la línea central de inserción de la muestra indica que la bacteria de prueba es móvil¹³.

Materiales

- Barrera de bioseguridad (guantes, toca, mandil, mascarilla)

- Mechero de bunsen
- Aguja de platino
- Tubo que contiene el medio SIM
- Estufa

Técnica

1. Con el asa obtener un la colonia a estudiar y realizar un inculo insertando la aguja en forma recta hasta la mitad de la distancia al fondo en el centro del tubo
2. Incubar los tubos con las tapas flojas a 37 °C por 24 horas en una atmosfera aerobia.

Interpretación de resultados

El desarrollo de un color rojo-fucsia en la interfase del reactivo y de los medio segundos después añadir el reactivo de Kovacs indicó la presencia de indol y por lo tanto una prueba positiva.

Movilidad: Me permite determinar la capacidad de movimiento por parte de un microorganismo.

Ácido sulfhídrico (SH₂): Se observó una coloración negra que cubre todo el cuerpo del medio en el tubo.

Indol: sobre el medio se colocó una o dos gotas de reactivo de Kobacs, se observó la presencia de un anillo de coloración roja sobre el Agar, fue indicativo que es Indol positivo¹³.

3.8.5 ACTIVIDAD CITOCROMO-OXIDASA

Fundamentos

Los citocromos son hemoproteinas que contienen hierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria aerobia, transfiriendo electrones (Hidrogeno) al

oxígeno, con formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en los organismos aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de Oxidasa es importante para identificar aquellos organismos que carecen de esta enzima (anaerobios obligados). La prueba fue muy útil para diferenciar Enterobacterias (todas oxidasa negativas) de otras especies como Pseudomona o Neisserias oxidasa positiva.

Materiales y reactivos

- Barreras de bioseguridad
- Disco de oxidasa
- Portaobjeto
- Agua
- Palillo de madera
- Mechero
- Siembra

Técnica

Prueba en portaobjetos

1. Humedecer el disco de Oxidasa con una gota de agua
2. Luego colocar sobre este una colonia del microorganismo en estudio.
3. Incubar a temperatura ambiente, durante 1 minuto.

Interpretación de los Resultados

Positivo: observación de color rosado a fucsia en el disco.

Negativo: el disco permanece sin cambio de color.

Antibiograma

- Elaboracion inóculo: A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas tomar de 3 a 5 colonias con un asa estéril.

- Elaboración de escala: Ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland en suero fisiológico. Agitar en un agitador durante 15-20 segundos.
- Inoculación de las placas: Antes de que transcurran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, introducir un escobillón dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.
- Inocular las placas de agar Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consigue deslizando el escobillón por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.
- Dispensación de los discos: Colocar los discos con los dispensadores o manualmente con pinzas estériles. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6.

- Incubación: Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 5 placas, a 35°C en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos. Las placas se incubarán 16-18 horas (con estafilococos sensibles a meticilina debe prolongarse la incubación hasta 24 horas para confirmar la ausencia de resistencia a la meticilina).

Medición: Después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con una regla. Las zonas de los medios transparentes se miden sobre el reverso de la placa y los medios que contienen sangre sobre la superficie del agar¹³.

3.8.6. PROTOCOLO DE IDENTIFICACION DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS

3.8.7 PRUEBA DE LA CATALASA

Fundamento

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de Hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. El peróxido de Hidrogeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule resulta letal para la célula bacteriana¹³.

La prueba de la catalasa se usa con mucha frecuencia para diferenciar *Staphylococcus* de miembros de la familia *Streptococcaceae*.

Materiales y reactivos

- Peróxido de Hidrogeno al 3% almacenado en frasco ámbar en frío.
- Cultivo de 18-24 horas del microorganismo a probar

Técnica

1. En una placa portaobjetos en los extremos colocar una colonia del microorganismo Cocos Gram Positivos a estudiar.
2. Colocar una gota de agua oxigenada sobre cada una de las colonias.
3. La producción rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva.

Interpretación de resultados

- Si presenta efervescencia = *Staphylococcus*
- No presenta efervescencia = *Streptococcus*

Nota: los eritrocitos poseen catalasa, por lo cual se evitó tomar colonias de Agar sangre para evitar falsos positivos.

3.8. 8 PRUEBA DE LA COAGULASA

Fundamento

Permite diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo) del resto de especie *Staphylococcus* (coagulasa negativos). La técnica en tubo detecta libre y ligada.

Mecanismo de acción de la coagulasa libre: procoagulasa (enzima extracelular bacteriana) reacciona con un factor activador presente en el plasma sanguíneo similar a la protrombina, dando lugar a un complejo análogo a la trombina (coagulasa propiamente dicha) que reacciona con fibrinógeno formando un coágulo de fibrina en ausencia de Ca^{2+} . La coagulasa ligada o factor de agregación actúa directamente sobre el fibrinógeno y lo convirtió en fibrina. No requiere la presencia de activadores plasmáticos¹³

Materiales

- Barreras de bioseguridad
- Placas portaobjeto
- Plasma
- Asa bacteriológica
- Mechero

Técnica

1. En una placa colocar una gota de plasma.
2. Sobre la gota de plasma colocar una colonia de estudio.
3. Esperar 15 minutos y controlar cada 30 segundos hasta observar si presenta coagulación.

Interpretación de resultados

Si presenta coagulación = *Staphylococcus aureus*

No presenta coagulación = *Staphylococcus epidermidis* o *Staphylococcus saprophyticus*.

3.8.9 PRUEBA DE FERMENTACIÓN DE MANITOL SALADO

Este medio es utilizado para el aislamiento y numeración de microorganismos pertenecientes al género *Staphylococcus*.

Fundamento

Se trata de un medio altamente selectivo debido a su alta concentración salina. Los estafilococos coagulasa positiva hidrolizan el manitol acidificando el medio; las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante.

Los estafilococos coagulasa negativos, presentan colonias rodeadas de una zona roja o púrpura. Las colonias sospechosas, se repicarán en un medio sin exceso de cloruro de sodio para efectuarles, posteriormente, la prueba de la coagulasa¹³.

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, el manitol es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, y el rojo fenol es el indicador de pH.

Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo.

Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol¹³.

Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color.

Los estafilococos que no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura.

Materiales

- Barreras de bioseguridad
- Colonias bien aisladas en Agar sangre de los microorganismos a probar
- Placas petril con agar manitol salado
- Asa bacteriológica
- Mechero de bunsen

Siembra

1. Con el asa previamente esterilizada se obtiene una colonia de la bacteria en estudio y se descarga sobre la superficie del medio formando estrías.
2. Incubar a 37 °C por 24 horas.
3. Incubar durante 18-24 horas a 35-37 °C, en aerobiosis.

Interpretación de resultados

- *Staphylococcus aureus*

Crecimiento	Características de las colonias
Excelente	Amarilla
- *Staphylococcus epidermidis*

3.9 ASPECTOS ÉTICOS

Los casos incluidos en el presente estudio así como la información recopilada fueron estrictamente confidenciales.

Todos los casos previos a su inclusión en el presente estudio, tuvieron consentimiento informado leído y firmado por sus respectivos tutores o cuidadores legales.

Los investigadores del estudio declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses con ninguna institución hospitalaria, tipo de tratamiento o prueba diagnóstica que se incluyen en esta investigación.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TABULACIÓN

Se analizaron 30 muestras de pacientes que acuden al Laboratorio Central Puyo para realizarse un Semiograma

1. EDAD

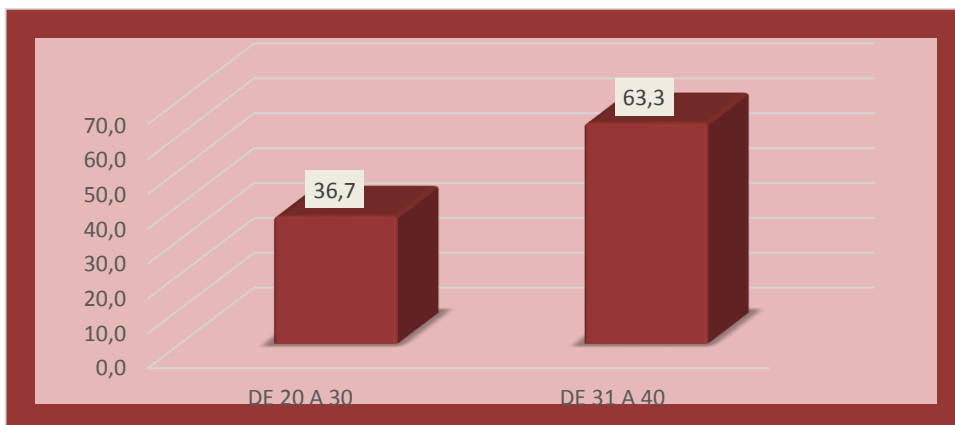
Tabla N° 1 Edad

RANGOS	EDAD	
	f	%
DE 20 A 30	11	36,7
DE 31 A 40	19	63,3
TOTAL	30	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 1 Edad



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

En el caso de los rangos de edad, 11 pacientes están en el rango de edad entre 20 y 30 años lo que representa el 36.7%, y 19 pertenecen al rango entre 31 y 40 años correspondiendo el 63.3 %

Interpretación:

Los pacientes con infección de vías seminales en el Laboratorio central Puyo que son de que se encuentran en el rango de edad entre los 31 y 40 años de edad son los de mayor frecuencia en el grupo de estudio.

2. IDENTIFICACIÓN DEL TIPO DE GÉRMEN

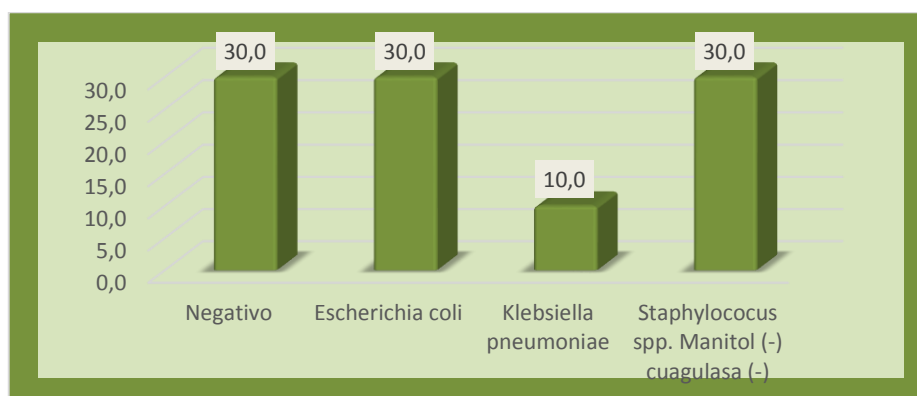
Tabla N° 2 Germen

TIPO	GERMEN	
	f	%
Negativo	9	30,0
<i>Escherichia coli</i>	9	30,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	10,0
<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	9	30,0
TOTAL	30	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 2 Germen



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

En el caso de la identificación del tipo de germen, en 9 pacientes no presentan ningún tipo de germen o su resultado es negativo lo que representa el 30%, 9 presentan *Escherichia coli* lo que representa el 30%, 3 pacientes tienen *Klebsiella pneumoniae* es decir el 10%, y finalmente 9 pacientes presentan *Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)* lo que significa el 30%.

Interpretación:

Las muestras que cumplen los requerimientos para poder realizar un antibiograma son 12 de los cuales 9 presentan *Escherichia coli* y 3 presentan *Klebsiella pneumoniae*.

3. SOLICITUD DE ANTIBIOGRAMA

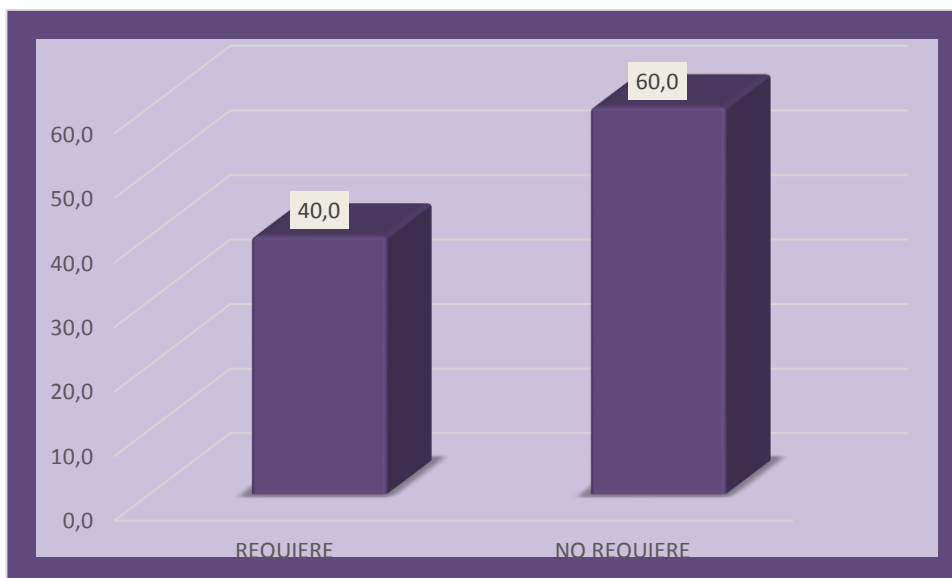
Tabla N° 3 Solicitud de Antibiograma

RANGOS	SOLICITUD ANTIBIOGRAMA	
	f	%
REQUIERE	12	40,0
NO REQUIERE	18	60,0
TOTAL	30	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Género N° 3 Solicitud de Antibiograma



Análisis:

En el caso de la solicitud de antibiograma existen 12 pacientes que requieren que se realice esta prueba lo que representa el 40% y 18 no requieren lo que significa el 60%

Interpretación:

Los pacientes que no requieren el antibiograma son los de mayor incidencia dentro de la muestra, aunque la cantidad que si requiere el antibiograma es elevada de acuerdo con la muestra analizada.

4. MUESTRAS QUE NO JUSTIFICAN ANTIBIOGRAMA

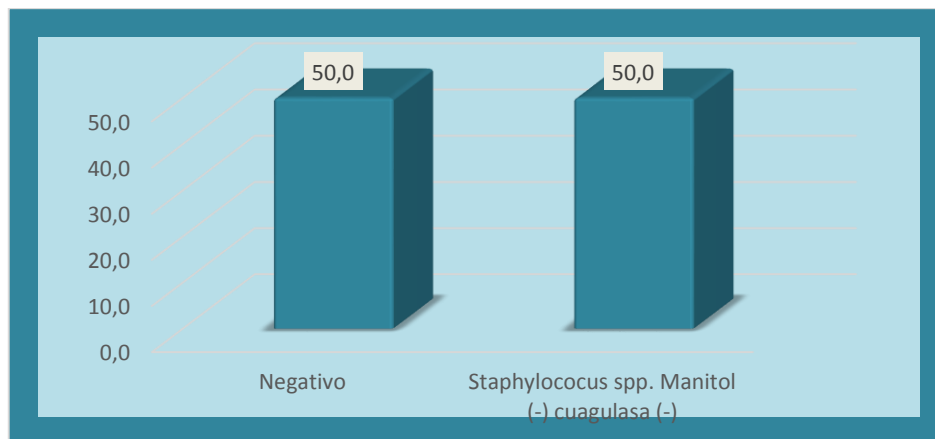
Tabla N° 4 NO ANTIBIOGRAMA

REQUERIMIENTO	NO REALIZAR ANTIBIOGRAMA	
	f	%
Negativo	9	50,0
<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Manitol (-)</i> <i>cuagulasa (-)</i>	9	50,0
TOTAL	18	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 4 NO ANTIBIOGRAMA



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

En el caso de los 18 pacientes que no justifican la realización de antibiograma se encuentran 9 que dieron un diagnóstico negativo a la presencia de este tipo de germen lo que representa el 50% y en 9 pacientes se encontró *Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)* lo que significa el 50%.

Interpretación:

Las muestras en las que no se justifica el realizar el antibiograma son 18 de las cuales 9 no presentan ningún tipo de germen y 9 presentan *Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)* debido a que este tipo de germen no se justifica la aplicación del antibiograma en estas muestras.

5. MUESTRAS QUE JUSTIFICAN ANTIBIOGRAMA

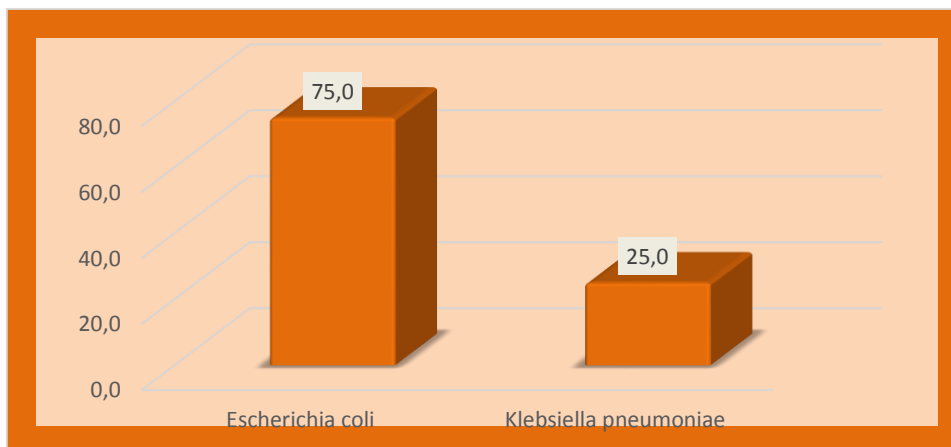
Tabla N° 5 Muestras para antibiograma

REQUERIMIENTO	REALIZAR ANTIBIOGRAMA	
	f	%
<i>Escherichia coli</i>	9	75,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	25,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 5 Muestras para antibiograma



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

En el caso de las 12 muestras que requieren un antibiograma 9 presentan *Escherichia coli* lo que representa el 75% y 3 muestras poseen *Klebsiella pneumoniae* lo que significa el 25%.

Interpretación:

De las 12 muestras que cumplen con los requerimientos para poder realizar un antibiograma las de mayor incidencia son las que poseen *Escherichia coli*

6. SENSIBILIDAD A CEFAZOLINA

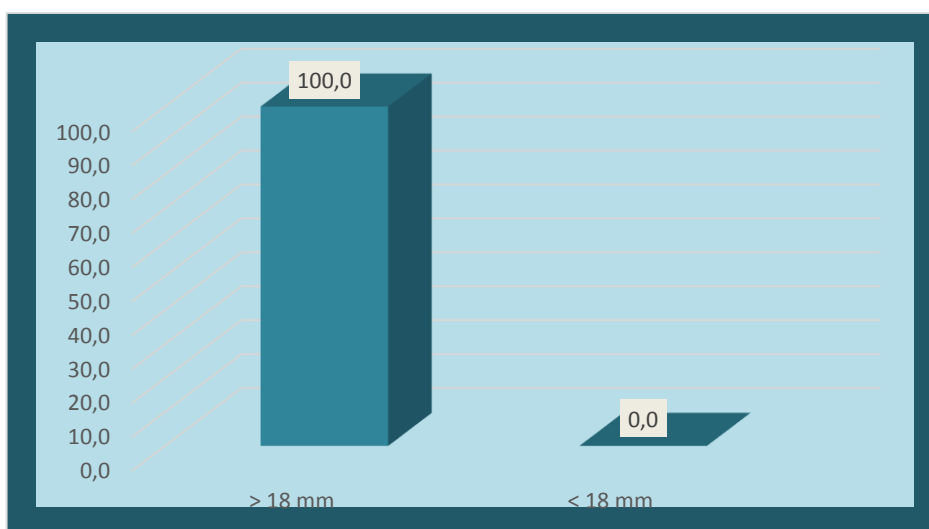
Tabla N° 6 Sensibilidad a Cefazolina

CEFAZOLINA 30 mg	SENSIBILIDAD	
	f	%
> 18 mm	12	100,0
≤ 18 mm	0	0,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 6 Sensibilidad a Cefazolina



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

Para la Cefazolina de 30 mg 12 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 18 mm que corresponden al 100% y no hubo muestras que presenten un halo de inhibición menor o igual a 18 mm

Interpretación:

El 100% de las muestras fueron sensibles a Cefazolina de 30 mg.

7. SENSIBILIDAD A AMPICILINA 30 mg + SULBACTAM 30 mg

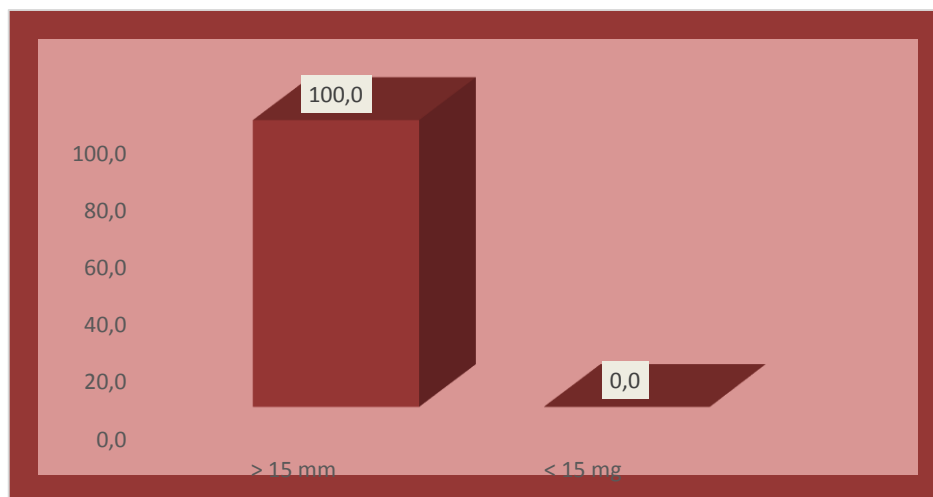
Tabla N° 7 Sensibilidad ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg

AMPICILINA 30 mg + SULBACTAM 30 mg	SENSIBILIDAD	
	f	%
> 15 mm	12	100,0
≤ 15 mg	0	0,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 7 Sensibilidad ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

Para la ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg 12 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 18 mm que corresponden al 100% y no hubo muestras que presenten un halo de inhibición menor o igual a 18 mm

Interpretación:

El 100% de las muestras fueron sensibles a ampicilina 30 mg + sulbactam 30 mg

8. SENSIBILIDAD A CEFOTAXIMA

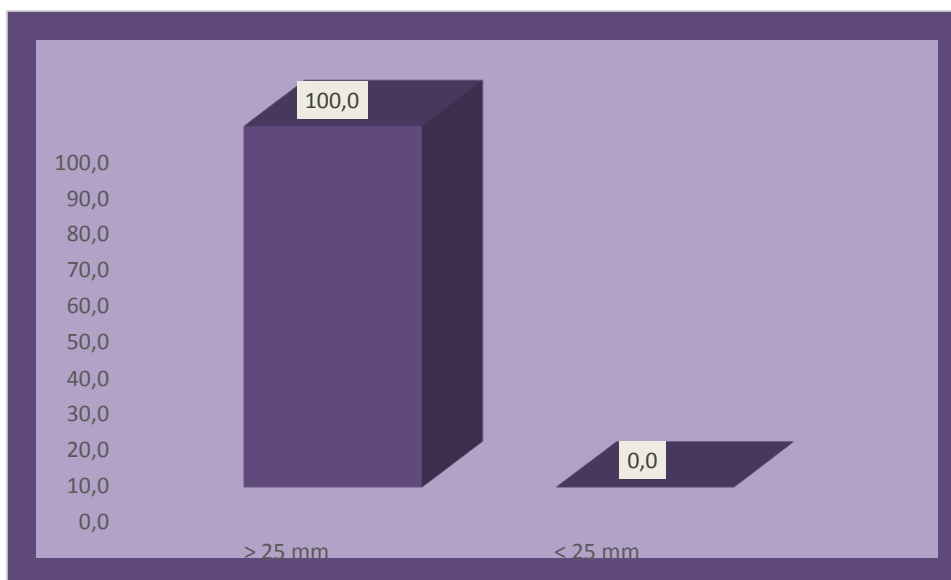
Tabla N° 8 Sensibilidad a Cefotaxima

CEFOTAXIMA 30 mg	SENSIBILIDAD	
	f	%
> 25 mm	12	100,0
≤ 25 mm	0	0,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 8 Sensibilidad a Cefotaxima



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

Para la Cefotaxima de 30 mg 12 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 18 mm que corresponden al 100% y no hubo muestras que presenten un halo de inhibición menor o igual a 18 mm

Interpretación:

El 100% de las muestras fueron sensibles a Cefotaxima de 30 mg.

9. SENSIBILIDAD A CLINDAMICINA

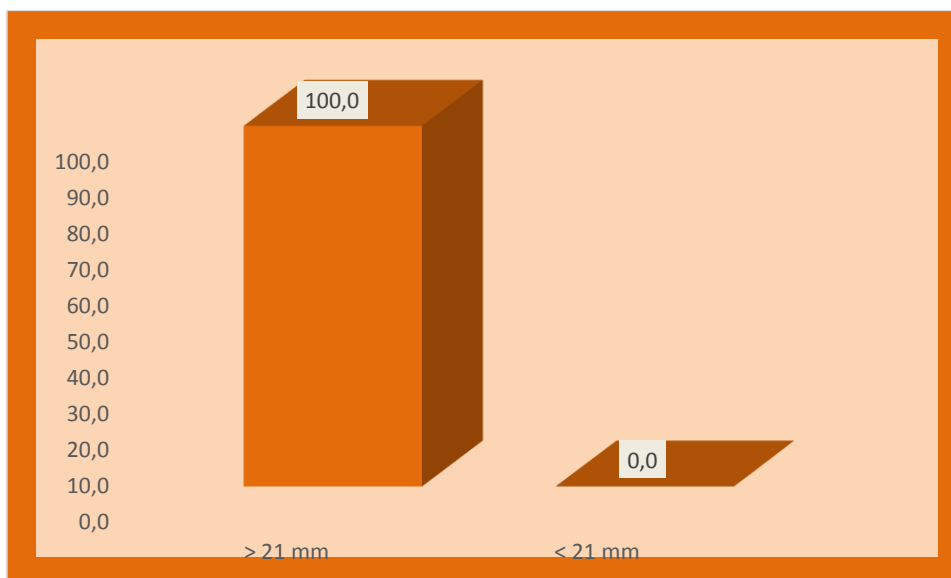
Tabla N° 9 Sensibilidad a Clindamicina

CLINDAMICINA	SENSIBILIDAD	
	f	%
> 21 mm	12	100,0
≤ 21 mm	0	0,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 9 Sensibilidad a Clindamicina



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

Para la Clindamicina de 30 mg 12 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 18 mm que corresponden al 100% y no hubo muestras que presenten un halo de inhibición menor o igual a 18 mm

Interpretación:

El 100% de las muestras fueron sensibles a Clindamicina de 30 mg.

10. SENSIBILIDAD A CETAZIDIME

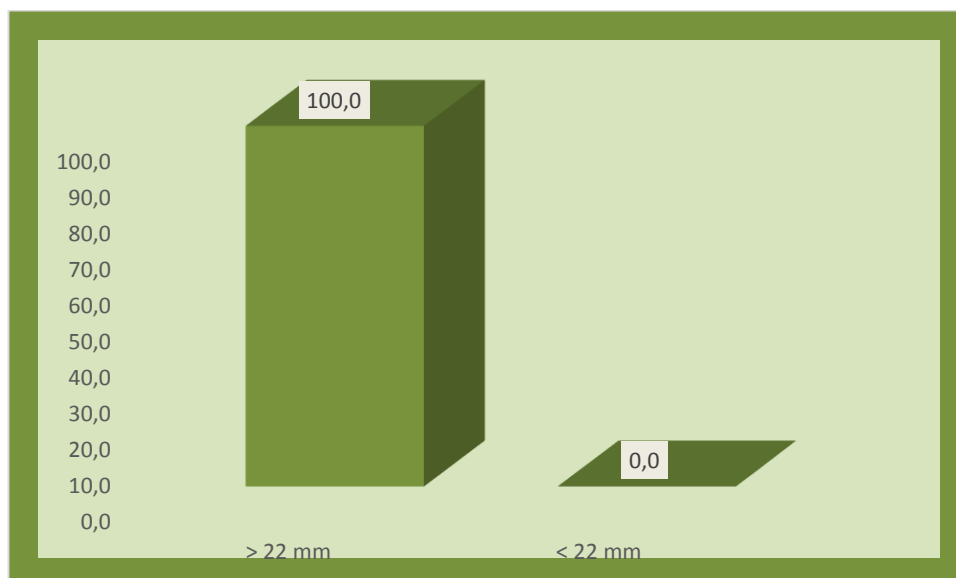
Tabla N° 10 Sensibilidad a Cetazidime

CETAZIDIME	SENSIBILIDAD	
	f	%
> 22 mm	12	100,0
≤ 22 mm	0	0,0
TOTAL	12	100,0

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Gráfico N° 10 Sensibilidad a Cetazidime



Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Análisis:

Para la Cetazidime de 30 mg 12 muestras presentaron un halo de inhibición mayor a 18 mm que corresponden al 100% y no hubo muestras que presenten un halo de inhibición menor o igual a 18 mm

Interpretación:

El 100% de las muestras fueron sensibles a Cetazidime de 30 mg.

Tabla N° 11 Datos Pacientes

CODIGO	SEXO	EDAD	CRECIMIENTO	FRESCO	GRAM	CITRATO	UREA	TSI	LIA	SIM	MR	VP	IDENTIFICACIÓN
1	M	23	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	M	40	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
3	M	36	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
4	M	34	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
5	M	30	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
6	M	32	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
7	M	23	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8	M	39	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
9	M	38	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
10	M	35	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>

11	M	34	(+)	cocos	cocos gram positivos									<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
12	M	23	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO, INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO		<i>Escherichia coli</i>
13	M	21	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	M	34	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
15	M	23	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO, INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO		<i>Escherichia coli</i>
16	M	35	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO, INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO		<i>Escherichia coli</i>
17	M	40	(+)	bacilos	bacilos Gram (-)	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18	M	30	(+)	bacilos	bacilos Gram (-)	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
19	M	29	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
20	M	32	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
21	M	33	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
22	M	39	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>

23	M	37	(+)	bacilos	bacilos Gram negativos	NEGATIVO	NEGATIVO	A/A GAS: POSITIVO, H2S NEGATIVO	K/K	H2S NEGATIVO, MOTILIDAD POSITIVO,INDOL POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<i>Escherichia coli</i>
24	M	33	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
25	M	37	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
26	M	23	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
27	M	38	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
28	M	30	(+)	bacilos	bacilos Gram (-)	POSITIVO	POSITIVO	A/AGAS (+), H2S (-)	K/K	H2S (-), MOTILIDAD (+), INDOL (-)	POSITIVO	POSITIVO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
29	M	35	(+)	cocos	cocos gram positivos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>
30	M	30	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Tabla N° 12 Recolección de Datos

CÒDIGO	GÉNERO	Edad	GERMEN	SOLICITUD DE ANTIBIOGRAMA	ANTIBIOGRAMA	
					SENSIBLE	RESISTENTE
1	MASCULINO	23	(-)	NO REQUIERE		
2	MASCULINO	40	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
3	MASCULINO	36	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
4	MASCULINO	34	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	
5	MASCULINO	30	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
6	MASCULINO	32	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
7	MASCULINO	23	(-)	NO REQUIERE		

8	MASCULINO	39	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
9	MASCULINO	38	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
10	MASCULINO	35	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
11	MASCULINO	34	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
12	MASCULINO	23	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
13	MASCULINO	21	(-)	NO REQUIERE		
14	MASCULINO	34	(-)	NO REQUIERE		
15	MASCULINO	23	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
16	MASCULINO	35	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA

17	MASCULINO	40	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
18	MASCULINO	30	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
19	MASCULINO	29	(-)	NO REQUIERE		
20	MASCULINO	32	(-)	NO REQUIERE		
21	MASCULINO	33	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
22	MASCULINO	39	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
23	MASCULINO	37	<i>Escherichia coli</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
24	MASCULINO	33	(-)	NO REQUIERE		
25	MASCULINO	37	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
26	MASCULINO	23	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)</i>	NO REQUIERE		
27	MASCULINO	38	(-)	NO REQUIERE		

28	MASCULINO	30	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	REQUIERE	Ampicilina+Sulbactam, Cefazolina, Clindamicina, Cefotaxima, Cetazidime.	NO HAY RESISTENCIA
29	MASCULINO	35	<i>Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa</i>	NO REQUIERE		
30	MASCULINO	30	(-)	NO REQUIERE		

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

Tabla N° 13 Antibiograma

CODIGO	IDENTIFICACION	Cefazolina	Clindamicina	Ampicilina mas Sulbactan	Cefotaxima	Ceftazidime	SENSIBLES
2	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
4	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
6	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
8	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
9	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
12	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
15	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
16	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
17	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
23	<i>Escherichia coli</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA
28	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	≤ 18 mm	≤ 21 mm	≤ 15 mm	≤ 25 mm	≤ 22 mm	NO HAY RESISTENCIA

Elaborado por: La investigadora

Fuente: Resultados

DISCUSIÓN

En las 30 muestras de la investigación se identificó que las bacterias presentes fueron:

Gram Positiva: *Staphylococcus spp.* *Manitol (-) cuagulasa (-)* (no patógena)

Gram negativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* como bacterias causantes de las infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo

Por lo que se valida la Hipótesis alterna que dice:

Hi: Las bacterias Gram negativas son causantes de la mayoría de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acuden al Laboratorio Central Puyo.

Se descarta la Hipótesis nula que dice:

Ho: Las bacterias Gram negativas no son causantes de la mayoría de infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años que acuden al Laboratorio Central Puyo.

CONCLUSIONES

- Luego de realizar la investigación se identificó que las bacterias presentes en líquido seminal fueron Gram positivas *Staphylococcus spp. Manitol (-) cuagulasa (-)* en un 30% y Gram negativas *Escherichia coli*, en un 30% , *Klebsiella pneumoniae* en un 10% como bacterias causantes de las infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo. No se presentó infección mixta.
- Se utilizaron los protocolos microbiológicos establecidos por el CLSI para identificar bacterias potencialmente patógenas como *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*,
- La mayor prevalencia en infecciones de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo fueron *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*,.
- Al realizar las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. se pudo observar los siguientes resultados:
Cefazolina sensible en un 100% , Clindamicina sensible en un 100%,
Ampicilina más Sulbactan sensible en un 100%, Cefotaxima sensible en un 100%, Ceftazidime sensible en un 100%.
- Se pudo Identificar que la razón de la frecuencia de infecciones graves de vías seminales en hombres de 20 a 40 años de edad que acuden al Laboratorio Central Puyo es la falta de controles preventivos, datos obtenidos de la historia clínica.

RECOMENRACIONES

- Prevenir las infecciones con un buen aseo genital.
- Realizar controles preventivos, para evitar complicaciones.
- Se recomienda implementar el semiograma como prueba control en hombres en edad reproductiva, para evitar infecciones en las vías seminales que pueden llegar a causar esterilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bibliografía

1. Alvarez y Bouquet. (1995). Manual de Tecnicas en Microbiologia Clinica. Washington: Primera Edicion.
2. Ambato, M. d. (20 de marzo de 2013). Estudios sobre la neumonia nosocomial. (L. Medina, Entrevistador)
3. Ausina y Ruiz. (2006). Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid- España.
4. Bailey y Scott. (2009). Diagnostico Microbiologico. Buenos Aires - Argentina: 12ava. ed.
5. Cordova,Peña y Otros. (2011). Neumonía asociada con ventilador en pacientes de la unidad de cuidados intensivos. Medicina Interna de México, 2-3.
6. Hospital San Camilo. (2011). Manual de Procedimientos de Laboratorio Clinico. Chile: Segunda Edicion.
7. Instituto Nacional de Salud (Peru). (2001). Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Microbiologia.
8. Koneman, E. (2006). Diagnostico Microbiologico. Madrid- España: sexta ed.
9. LLlop, Valdez y Zuazo. (2001). Microbiologia y Parasitologia Medica. La Habana: Tomo 1.
10. Lozada, C. (2003). Fase Pre-analitica en Microbiologia.
11. Mac Faddin, J. (2003). Pruebas bioquimicas para la Identificacion de bacterias de Importancia Clinica. 3era Edicion.

12. MacFaddin, J. (2000). Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Buenos Aires - Argentina: Tercera Edición.
13. Masson, S.A. (2005). Bacteriología Clínica. Barcelona, España: III TOMO.
14. Montenegro, E. (JUNIO de 2012). Neumonía Nosocomial Asociada A La Ventilación Mecánica. Tesis de Especialidad. Quito, Ecuador.
15. Organización Mundial de la Salud. (2003). Prevención de las Infecciones Nosocomiales. 2da. edición.
16. Organización Mundial de la Salud. (2009). Guía de la OMS- Higiene de Manos en la Atención de la Salud. Primer Desafío Global de Seguridad del Paciente .
17. Prats, G. (2008). Microbiología Clínica. Buenos Aires-Madrid: 1er. Tomo.
18. Romero, R. (2007). Microbiología y Parasitología humana. Argentina: 3era. edición.
19. Ruiz y Guillen. (2005). diagnóstico Microbiológico.
20. Salud Madrid. (2007). Prevención y Control de la Infección Nosocomial. Madrid: 1er Tomo.
21. Villavicencio y Ochoa. (2006). guía para la prevención de neumonías intrahospitalarias. Cusco.

LINKOGRAFÍA:

1. Aguilera y Ortíz. (2010). *Neumonía nosocomial en la unidad de cuidados intensivos*. Recuperado el 12 de octubre de 2014, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/med/vol36_2_97/med04297.htm
2. Albrechts, C. (2010). *Departamento de Microbiología Medica y Virologia de la Universidad de Kiel-Alemania*. Recuperado el 13 de febrero de 2015, disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88898/>
3. Becton, Dickinson and Company. (8 de Abril de 2008). *SIM Medium*. Recuperado el 25 de Mayo de 2015, disponible en http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/L007503%2808%29%280408%29_ES.pdf
4. Britania Lab. (31 de Diciembre de 2014). *Tioglicolato Medio Fluido Sin Indicador*. Recuperado el 23 de octubre del 2014 disponible en <http://britannialab.com.ar/esp/productos/b02/tiogmedflusinindic.htm>
5. C. Rivas, M. Mota. (2008). *Bacterias Aerobias*. Recuperado el 15 de enero de 2013, disponible en <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteriasAnaerobias.pdf>
6. Consejo Superior de Investigaciones Científicas "CSIC". (2010). *Bacterias Oportunistas*. Recuperado el 12 de diciembre de 2014, disponible en www.abc.com.py/articulos/bacterias-oportunistas-87974.html
7. Constitución del Ecuador. (2008). *Derechos del buen vivir*. Recuperado el 13 de marzo de 2015, disponible en http://www.eruditos.net/mediawiki/index.php?title=Derechos_del_buen_vivir
8. Corneros, C. (2011). *Manual de procedimientos de Laboratorio Clínico*. Obtenido de

http://www.seis.es/documentos/informes/secciones/adjunto1/CAPITULO6_1.pdf

9. Dr. Ruano, Maldonado y Salazar. (2004). *Frecuencia de infección nosocomial en terapia intensiva*. Recuperado el 20 de marzo de 2015, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol42_1_04/hie05104.htm
10. Educa-Madrid. (2010). *Medios de cultivo. tipos, clasificación, enumeración, elaboración general y utilización de los mismos. tecnicas de inoculacion, incubacion y recuento de la muestra biologicas*. Recuperado el 24 de febrero del 2015 disponible en <http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/0e8a6919-7eeb-423f-9fa8-b9c866aab3ff/Medios%20de%20cultivo.pdf>
11. Garcias,Rodriguez y Otros. (2004). *Tecnica para aspiracion por tubo endotraqueal*. Recuperado el 14 de febrero de 2015, disponible en <http://www.enferurg.com/protocoloschus/1304.pdf>
12. Grupo Argentino-Latino Americano. (2005). *Neumonía intrahospitalaria*. Recuperado el 18 de diciembre de 2014, disponible en http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pidet_articulo=13077956&pidet_usuario=0&pcontactid=&pidet_revista=6&ty=47&accion=L&origen=bronco&web=http://www.archbronconeumol.org&lan=es&fichero=6v41n08a13077956pdf001.pdf
13. Grupo de estudios de vigilancia de infección nosocomial en uci. (2003-2005). *Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Unidades de Cuidados Intensivos*. Recuperado el 20 de diciembre de 2014, disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0210-56912007000100002&script=sci_abstract
14. Hospital de Clinicas. (2004). *manual de tomas de muestra para estudio bacteriologico,parasitologico y micologico*. Recuperado el 14 de

noviembre de 2014, disponible en <http://www.slideshare.net/doctor-Alfredo-Bolano/laboratorio-8536468>

15. Ntramedic. (09 de Mayo de 2011). *Infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos* . Recuperado el 16 de 12 de 2015, disponible en http://www.intramed.net/buscar_resultado.asp?buscar_texto=neumonia%20intrahospitalaria&contenidoTipoID=31
16. Jimenez, M. (Diciembre de 2011). *Metodos de Siembra*. Recuperado el 26 de marzo del 2015. Disponible en <http://metodosdsiembras.blogspot.com/>
17. Juárez, M. (20 de marzo de 2012). *Tincion Gram*. Recuperado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://www.slideshare.net/Mardj/prctica-2-tincin-de-gram>
18. Laboratorios Britania S.A. (Febrero de 2010). *Sangre Agar Base*. Recuperado el 17 de mayo del 2015 disponible en <http://www.bio-bacter.com/Insertos/Medio%20de%20tioglicolato%20usp%20fluido.pdf>
19. Londoño, Fernandez y Otros. (2001). *Neumonia Nosocomial*. Recuperado el 24 de diciembre de 2015, disponible en <http://www.encolombia.com/medicina/pediatrica/pedi37102-neumonia>
20. Ministerio de Salud de Chile- Hospital del Salvador. (Diciembre de 2008). *Normas de prevencion de la neumonia nosocomial asociada a la ventilacion mecanica*. Recuperado el 21 de Febrero de 2015, disponible en <http://www.hsalmador.cl/documentos/Prevneumonianosocomial.pdf>
21. Oyola y Arce. (2011). *Factores de riesgo asociados a la neumonia intrahospitalaria en pacientes de cuidados intensivos*. Recuperado el 18 de noviembre de 2014, disponible en http://www.medicinainterna.org.pe/revista/revista_24_3_2011/factores_de_riesgo_asociados_a_neumonia.pdf

22. Ramírez , Robustillo y Otros. (12 de Diciembre de 2007). *Prevencion y control de la neumonia nosocomial*. Recuperado el 22 de Diciembre de 2014, disponible en <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3DGuiaBPC-+Infecci%C3%B3n+Nosocomial+5+mayo+2009.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26sit>
23. Ruano, Maldonado y Otros. (2004). *Frecuencia de infección nosocomial en terapia intensiva*. Recuperado el 29 de marzo de 2014, disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol42_1_04/hie05104.htm
24. Secretaría Distrital de Salud de Bogota. (2004). *Neumonia Nosocomial*. Recuperado el 24 de Febrero de 2015, disponible en <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/002%20Neumonia.pdf>
25. Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía . (Julio - Diciembre de 2005). *Neumonia Nosocomial*. Recuperado el 17 de abril de 2015, disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/neumo/nt-2005/nt052e.pdf>

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA

EBRARY: Cordero, D. C. M., & Rojo, V. F. A. (2007). Parasitología general. España: McGraw-Hill España recuperado el 15/09/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10505109&p00=parasitologia>

EBRARY: López, P. M. C., Corredor, A. A., & Nicholls, O. R. S. (2012). Atlas de parasitología (2a. ed.). Colombia: Editorial El Manual Moderno Colombia. Recuperado el 15/09/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10995520&p00=parasitologia>

EBRARY: Rodríguez, P. E. G. (2013). Parasitología médica. México: Editorial El Manual Moderno. Recuperado el 15/09/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10853474&p00=parasitologia>

EBRARY: Rodríguez, B. E. (2009). Manual de prácticas de parasitología I y II. México: Universidad Autónoma de Guerrero.. Recuperado el 15/09/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10287194&p00=parasitologia>

EBRARY: Vidal, M. V. M., Aguirre, M. M. L., & González, S. D. (2010). Atlas de los helmintos parásitos de cíclidos de México. México: Instituto Politécnico Nacional. Recuperado el 15/09/2015

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10365908&p00=parasitologia>

ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado



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



CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

TEMA: “IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE INFECCIONES DE VÍAS SEMINALES EN HOMBRES DE 20 A 40 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL LABORATORIO CENTRAL PUYO”

He leído y he comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que se ha realizado.

Consiento voluntariamente mi participación en esta investigación como paciente voluntario y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que se me afecte de ninguna manera.

Nombre del participante:

Edad de participante:

Fecha:

Firma del representante

Numero de cedula

Si el paciente es analfabeto

Debe firmar un testigo que sepa leer y escribir (si es posible esta persona debería ser seleccionada por el participante).

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona Ha tenido la oportunidad de hacer las preguntas.

Confirmando que la persona ha dado el consentimiento para que su representado participe en la presente investigación.

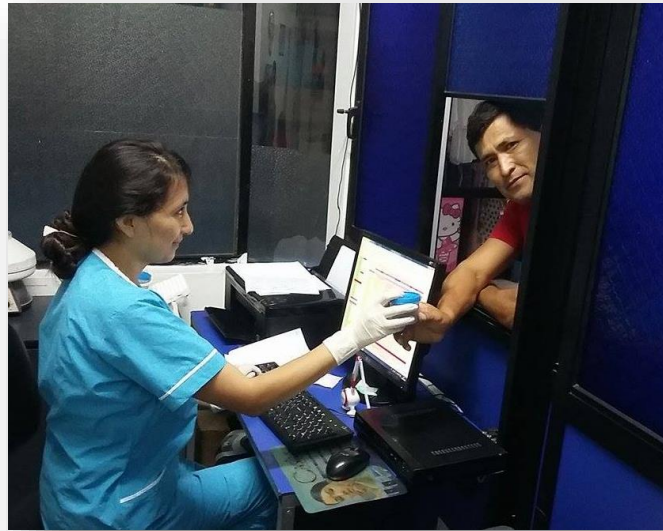
Nombre y firma del testigo:

Nombre y firma del investigador:

Anexo 2.

FOTOGRAFÍAS

Recepción de muestras



Firma de consentimiento informado



Procesamiento de la muestra

Observación en fresco



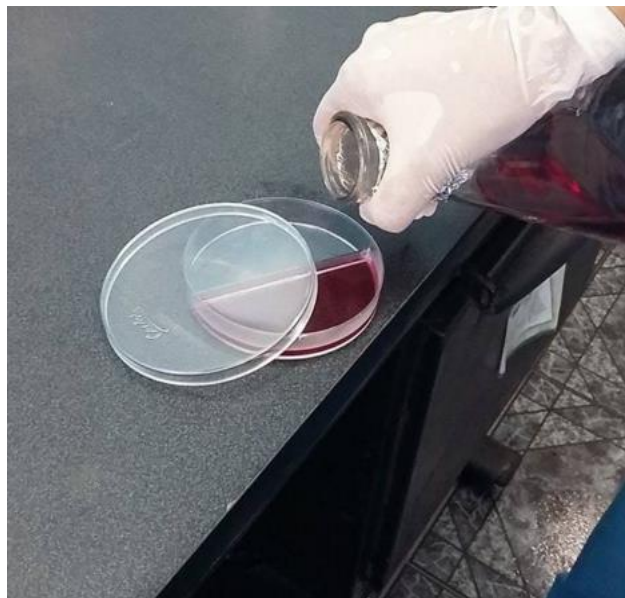
Tison Gram



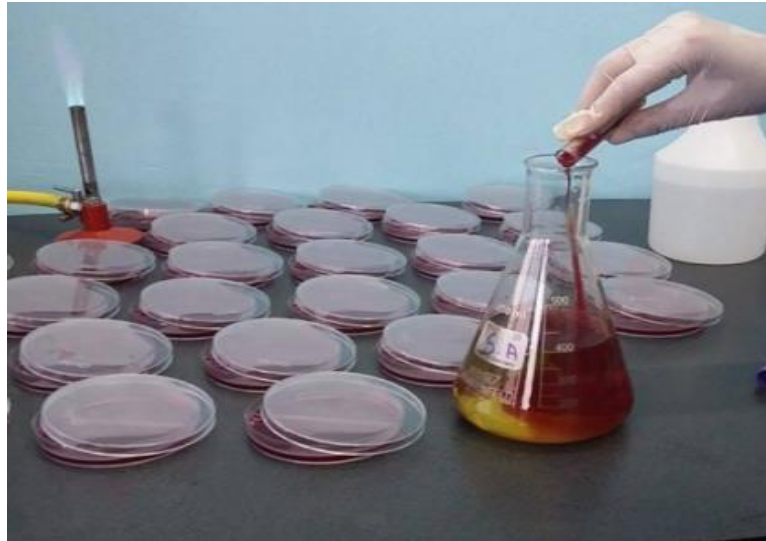
Preparacion de medios de Cultivo



Agar Mackonkey



Preparación Agar Sangre



Colocado en Cajas



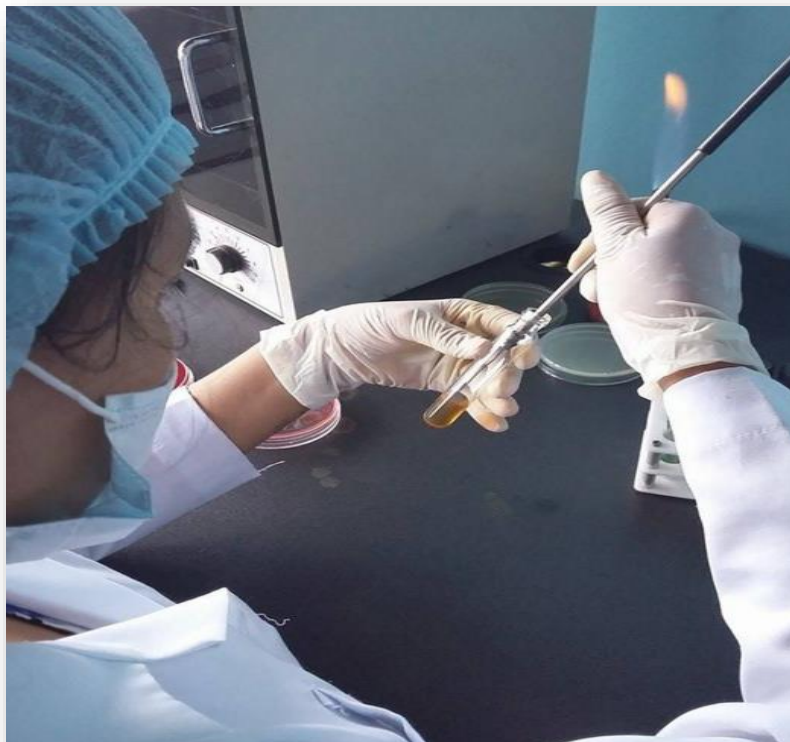
Siembra en medios de cultivo



Siembra en TSI



Siembra en MR



Siembra VP



Lectura de pruebas bioquímicas



Identificación de bacterias



Medio Agar Sangre y Maconkey

Semiograma



Lectura de Semiograma

