

Aislamiento e identificación de bacterias uropatógenas en muestras urinarias de mujeres atendidas en una clínica particular de Lima. Perú

Isolation and identification of pathogenic bacteria in urinary samples of women attended at a private clinic in Lima. Peru

Calipuy Verde, Ana Belén; Ortiz Centeno, María Claudia, Parraguez Burga, Mary Elizabeth; Solsol Isidro, Andrea Elizabeth; Zambrano Pérez, Rosa María

E.P. Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana Unión, Lima

Resumen

Objetivo: Determinar la incidencia por *Escherichia coli* en muestras de orina recolectadas de mujeres atendidas en una clínica particular de Lima, Perú con el fin de definir los agentes causales de enfermedades infecciosas. **Diseño:** Experimental. Teniendo en cuenta la práctica basada en la evidencia, este proyecto nace debido al alto índice en gestantes, adultas jóvenes e inmunosuprimidas que presentan dicho trastorno. **Metodología:** Para el estudio del caso se obtuvieron 20 muestras de orina para identificar *E. coli* uropatógena, de manera que se compruebe la prevalencia de esta enterobacteria en infecciones del tracto urinario (ITU). También, se realizó el aislamiento en el medio de cultivo Agar Mac Conkey y la identificación bioquímica se obtuvieron de Agar Tripe Azúcar Hierro (TSI), Agar Hierro Lisina (LIA), Citrato y Sulfhídrico Indol Movilidad (SIM). Para el antibiograma se conservó la cepa bacteriana en el medio Mueller Hinton con los antibióticos: ceftadizima + ácido clavulánico y cefotaxima + ácido clavulánico. **Resultados:** El análisis indicó que el 95% de esta patología es ocasionado por esta bacteria. A parte de ello, se evidenció si dichos microorganismos son Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE). **Conclusión:** Las pruebas obtenidas indican que el 90% de las muestras urinarias estudiadas resultaron positivas para *E. coli* y el 30% de estas resultó ser BLEE positivo.

Palabras claves: ITU, *Escherichia coli*, resistencia y sensibilidad bacteriana, BLEE

Abstract

Objective: To determine the incidence of *Escherichia coli* in urine samples collected from women attended at a private clinic in Lima, Peru, in order to define causative agents of infectious diseases. Experimental design. Taking into account the practice based on evidence, this project is born due to the high rate in pregnant, young and immunosuppressed adults who present this disorder. **Methodology:** For the study of the case 20 urine samples were obtained to identify uropathogenic *E. coli*, in order to verify the prevalence of this enterobacterium in urinary tract infections (UTI). Also, isolation was performed in the MacConkey Agar agar medium and biochemical identification were obtained from Iron Agar Tripe (IST), Iron Agar Lysine (LIA), Citrate and Sulfhydryc Indole Mobility (SIM). For the antibiogram the bacterial strain in the Mueller Hinton medium was preserved with antibiotics: ceftadizine + clavulanic acid and cefotaxime + clavulanic acid. **Results:** The analysis indicated that 95% of this

pathology is caused by this bacterium. Besides that, it was evidenced if these microorganisms are Betalactamasa of Extended Spectrum (BLEE). **Conclusion:** The evidence obtained indicates that 90% of the urinary samples studied were positive for *E. coli* and 30% of these proved to be BLEE positive.

Key words: ITU, *Escherichia coli*, resistance and bacterial sensitivity, BLEE

Introducción

La infección de tracto urinario (ITU) es la enfermedad más frecuente del aparato urinario. Afecta, principalmente, al sexo femenino, debido a la corta distancia entre el ano y la vagina. Por lo tanto, producen daños en cualquier parte de las vías urinarias como vejiga, uréteres y riñón. Esta patogenia se define como la contaminación de gérmenes en el área uretral. En su mayoría, están causados por bacterias propias de la flora intestinal, siendo *Escherichia coli* responsable del 85% de esta afección. (Prats, 2012)

Las bacterias que se posesionan e infectan el tracto urinario poseen factores tanto fisiológicos como patológicos. En primer lugar, están relacionados con el coito y se dan con más frecuencia durante el embarazo. Además, debido a la sonda urinaria, litiasis en vías urinarias, reflujo vesico ureteral, alteraciones congénitas de las vías urinarias. (Valdevenito, 2008).

Más de la mitad de todas las mujeres tienen al menos una ITU durante su vida, puesto que, la distancia entre el ano y la vagina es corta. Más aún durante embarazo, debido a que, durante esta etapa, se provocan múltiples cambios anatómicos, hormonales y funcionales que ponen a la gestante en riesgo de infección del tracto urinario. (Echevarría, Sarmiento, & Ososores, 2006)

Los microorganismos que con mayor frecuencia afectan el tracto urinario son: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Proteus spp* y *Staphylococcus saprophyticus*. Los autores Tamayo, Cabrera, & Cardona (2015) refieren que en el Perú, en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza (HNAL), según el Departamento de Estadística e Informática, se realizan aproximadamente 30 000 urocultivos al año, de los cuales cerca del 20% resultaron positivos. Siendo las enterobacterias, principalmente *E. coli*, el agente más frecuente de ITU. (Astete, Madrid, Fukuda, Meritens, & Menchola, 2004).

La bacteria *Escherichia coli*, es un bacilo gramnegativo que pertenece a la familia de las enterobacterias. Forma parte de la microbiota humana y tiene como hábitat el intestino del hombre. Son gérmenes oportunistas porque al salir de su lugar de procedencia, ocasionan diversas enfermedades. Una de las más frecuentes es la infección al tracto urinario. El incremento de su resistencia se debe al uso de antibióticos baratos y de espectro limitado. (Guajardo, González, & Ayala, 2009)

La resistencia de ciertas bacterias se debe a la presencia del anillo betalactámico en su pared celular. Estas tienen la capacidad de modificar la flora vaginal normal. (Díaz, 2008) Por otro lado, otro factor predisponente es mal uso, amplio uso y abuso de los anantibióticos para tratar infecciones del tracto urinario. (García, 2001)

Por lo expuesto el objetivo fue determinar la incidencia de ITU por *E. coli* uropatógeno aislado de muestras urinarias en mujeres de una clínica particular como también, conocer la

sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infección al tracto urinario y reconocer si estas son betalactamasas positivas.

Métodos

Diseño y tipo de investigación. El estudio empleado fue descriptivo experimental realizado en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Peruana Unión, Ñaña.

Muestra. Para el estudio del caso se obtuvieron 20 muestras de orina de mujeres de una clínica particular de Lima, Perú con el fin de identificar *Escherichia coli* uropatógena y de esa manera determinar la prevalencia de esta enterobacteria en las infecciones del tracto urinario.

Técnica de instrumentos de medición. Se realizó el aislamiento de estas bacterias en un medio de cultivo llamado Agar Mac Conkey que facilita el desarrollo de bacilos gramnegativos (Cubillos, 2009), seguidamente, a todas las cepas incluidas en la investigación se les realizaron la identificación bioquímica por medio de TSI (Agar Triple Azúcar Hierro), CITRATO, LIA (Agar Lisina Hierro) Y SIM (Sulfhídrico Indol Motilidad) en la que se comprobó el microorganismo uropatógeno presente. No obstante, para la detección de susceptibilidad se realizó el antibiograma con el medio Mueller Hinton y los antibióticos: ceftadizima + ácido clavulánico (CTI) y cefotaxima + ácido clavulánico (CTA) que midió la resistencia de cada microorganismo. Finalmente, la prueba de BLEE (Betalactamasa de Espectro Extendido) para medir su susceptibilidad.

El Agar Mac Conkey es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativos del género *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros tipos de microorganismos de fácil desarrollo a partir de muestras clínicas. Para su preparación, primero, se utilizó 50 g en 1 litro de agua destilada. Segundo, se calentó y agitó a fin de lograr una mezcla homogénea. Tercero, se esterilizó a 121° C durante 15 minutos. Cuarto, se dejó enfriar hasta 45° C y se distribuyó en las placas de Petri estériles. Quinto, se dejó solidificar las placas parcialmente destapadas. Finalmente, se sembró por estría en la superficie del medio y se incubó a 37° por 24 horas. Luego de este proceso se observaron colonias rosadas rojizas que facilitó el paso al siguiente proceso.

La identificación bioquímica es un método que permite determinar la actividad metabólica y a través de ello clasificar a la cepa bacteriana. Para la realización de esta etapa se utilizaron cuatro medios que fueron esterilizados a 121° C por 15 minutos y colocados en tubos de ensayo, se dejó enfriar para lograr la solidificación de este, posteriormente se procedió a sembrar para ser incubados a 37° C durante 24 horas.

En primer lugar, TSI (Agar Triple Azúcar Hierro) que es un medio de color rojo el cual determina si la bacteria es fermentadora o no fermentadora por el viraje de color amarillo. Consta de tres azúcares: glucosa, sacarosa y lactosa. Para su preparación se utilizó 32.5 g en ½ litro de agua destilada. La técnica utilizada para su almacenamiento fue por pico de flauta y la siembra por punción y estría.

En segundo lugar, LIA, (Agar Lisina Hierro). Este medio es de color púrpura y sirve para reconocer si el microorganismo presenta la enzima lisina descarboxilasa, ya que, su acción radica en la fermentación de la glucosa volviéndose amarillo, pero, por la acción de esta enzima vuelve a su color original. Para su preparación se utilizó 17.28 g en ½ litro. La técnica utilizada para su almacenamiento fue por pico de flauta y la siembra por punción y estría.

En tercer lugar, Citrato es un medio de color verde mediante el cual se observa la presencia de la enzima citrasa en la bacteria al virar a color azul el medio. Para su preparación, se utilizó 11.5 g en ½ litro. La técnica utilizada para su almacenamiento fue por pico de flauta y la siembra por estría.

En cuarto lugar, SIM (sulfhídrico, Indol, Motilidad). Medio de color amarillo que permite la saber si la bacteria tiene ácido sulfhídrico, ya que el medio se vuelve de color negro, además, conocer si el germen tiene la enzima triptofanasa, para ello, se aplica aproximadamente cuatro gotas del reactivo de Kovacs, el cual cambia la superficie del medio formando un halo rojo, también, saber si la bacteria es móvil o inmóvil. Para su preparación se utilizó 18.115 g en ½ litro. La técnica utilizada para la siembra fue por punción.

El Agar Mueller Hinton es un medio utilizado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco. Su composición permite el crecimiento de bacterias no exigentes encontrados en patología humana. Por lo tanto, el antibiograma determina si la cepa bacteriana es sensible o resistente ante los antibióticos utilizados, en este caso, ceftadizima + ácido clavulánico (CTI) y cefotaxima + ácido clavulánico (CTA). Para la realización de este medio se utilizó 34 g en 1 litro y en la siembra se utilizó la técnica de estría en toda la placa por cuatro veces. Los antibióticos fueron colocados frente a frente. Finalmente, pasadas las 24 horas se leyó los resultados.

Proceso de recolección de datos. Además, se diseñó una ficha en la cual se consignó la información de los cultivos y se construyó una Base de Datos en Microsoft Excel 2013. Los resultados fueron expresados mediante porcentajes y mostrados en tablas.

Resultados

En el análisis comparativo de la Tabla 1 permite apreciar las 20 muestras de orina recolectadas de mujeres de una clínica particular de Lima, Perú. Esta tabla determina la especie uropatógena. En cambio, la Tabla 2 se evidencia si los microorganismos son BLEE positivo o negativo.

Tabla 1

Identificación bioquímica de Escherichia coli de las muestras urinarias de mujeres.

| Nº | Paciente | Identificación bioquímica | | | | Especie |
|----|----------|---------------------------|-----|---------|-----|----------------------------------|
| | | SI | LIA | CITRATO | SIM | |
| 1 | 565 | A/A -,- | + | - | - | <i>Escherichia coli</i> inactiva |
| 2 | 57 | A/A - | + | - | - | <i>Escherichia coli</i> inactiva |
| 3 | 648 | A/A - | + | - | - | <i>Escherichia coli</i> inactiva |
| 4 | 610 | A/A - | + | - | - | <i>Escherichia coli</i> inactiva |
| 5 | 55 | A/A - | + | + | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| 6 | 694 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 7 | 54 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 8 | 56 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 9 | 61 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 10 | 5792 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 11 | 5733 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 12 | 5785 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 13 | 21 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 14 | 692 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 15 | 644 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 16 | 696 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 17 | 662 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 18 | 668 | A/A - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 19 | 643 | A/A -,- | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| 20 | 295 | A/A -,- | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |

En la tabla 1. Se identifica 19 cepas infectadas por *E. coli* equivalente al 95 % de las muestras urinarias obtenidas, de las cuales el 20 % son inactivas (estado latente) y el 80% son activas. Por otro lado, el 5 % resultó ser *Klebsiella pneumoniae*. Por consiguiente, el microorganismo uropatógeno más frecuente en muestras urinarias es la *E. coli*.

Tabla 2
E. coli uropatógena Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) positivo

| N° de muestra de paciente | Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) | | Condición |
|---------------------------|--|--------------------------------------|-----------|
| | ceftadizima + ácido clavulánico (CTI) | cefotaxima + ácido clavulánico (CTA) | |
| 565 | x | x | Positivo |
| 57 | x | x | Positivo |
| 648 | x | x | Positivo |
| 610 | x | | Positivo |
| 55 | | x | Positivo |
| 694 | x | | Positivo |
| 54 | - | - | Negativo |
| 56 | - | - | Negativo |
| 61 | - | | Negativo |
| 5792 | - | | Negativo |
| 5733 | - | | Negativo |
| 5785 | - | | Negativo |
| 21 | - | | Negativo |
| 692 | - | | Negativo |
| 644 | - | | Negativo |
| 696 | - | | Negativo |
| 662 | - | | Negativo |
| 668 | - | | Negativo |
| 643 | - | | Negativo |
| 295 | - | | Negativo |

En la tabla 2. Se evidencia que el 30 % de las bacterias estudiadas son Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) positivo mientras que el 70 % son BLEE negativo.

Discusión

Con los resultados expuestos se observó que el 30% de ellas fueron betalactamasa positivo. Las BLEE son aquellas que tienen el anillo betalactámico y la enzima betalactamasa, multirresistentes a antibióticos, que se encuentran codificadas en plásmidos conjugativos, lo cual facilita su diseminación, no sólo entre distintas cepas de la misma especie, sino también entre bacterias de distintos géneros y grupos. Los autores Perozo & Castellano (2009) sostienen que los genes que codifican las BLEE y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y se

transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antibiótica múltiple. Esto permite la amplia distribución de la resistencia a los antibióticos y afecta seriamente los tratamientos. Según Gobernado (2005) la necesidad del seguimiento de las bacterias productoras de BLEE está basada en varias razones principales:

- Potencial transmisión de cepas con resistencia antibiótica múltiple.
- Aparición de brotes de infección nosocomial con alta morbilidad y mortalidad.
- Son causa de un uso excesivo de antibióticos de amplio espectro.
- El control de las resistencias limita los brotes epidémicos.

Existen diferentes intervenciones para evitar la diseminación de microorganismos productores de BLEE dentro de un hospital, similares a las que se tienen en cuenta para otras infecciones nosocomiales. La identificación temprana de pacientes infectados por organismos productores de BLEE con el uso de métodos de detección apropiados, la identificación de pacientes colonizados a través de hisopado rectal, análisis epidemiológico-moleculares de cepas de pacientes colonizados o infectados. (C. García, 2012)

En el presente estudio se evaluó la incidencia de ITU por *Escherichia coli* uropatógeno como también conocer la sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infección del tracto urinario asimismo determinar la incidencia de *E. coli* betalactamasas positivas.

La infección del tracto urinario (ITU) es el trastorno bacteriano más común en humanos, considerada, generalmente, como la existencia de microorganismos patógenos en el tracto urinario con o sin presencia de síntomas. Según Rosal & Anny (2010) las mujeres que padecen más de esta patología son las mujeres debido a la corta distancia que existe entre el ano y la vagina. En mi opinión, dicho estudio demostró una significativa menor distancia entre la uretra y el ano y entre la horquilla vulvar posterior y el ano en pacientes con antecedente de ITU en relación a pacientes controlados; su presentación más común es durante el embarazo, debido a que durante esta etapa se provocan múltiples cambios anatómicos, hormonales y funcionales que ponen a la gestante en riesgo de infección del tracto urinario. Los signos y síntomas característicos de esta enfermedad son fiebre, dolor lumbar, tenesmo vesical, polaquiuria, disuria, dolor suprapúbico, piuria, orina turbia. (Valdevenito, 2008) De las 20 muestras estudiadas el 90% fueron *E. coli* positivos y observo en la prueba de antibiograma que el 30% las muestras BLEE positivas.

Conclusión

Los resultados obtenidos en la investigación nos muestran que el 95% de las muestras urinarias analizadas resultaron ser positivas para *Escherichia coli* y el 5% restante para *Klebsiella pneumoniae*, lo cual se contrasta con la teoría y datos epidemiológicos de salud pública, que menciona que el principal causante de infecciones urinarias es *E. coli*.

Además, es de importancia clínica que algunas cepas bacterianas tienen mecanismos de resistencia a los fármacos, siendo una de ellas la producción de enzimas betalactámicas (BLEE), que inhiben el mecanismo de acción de los antibióticos. Se ha podido identificar

que el 30% de cepas bacterianas de *E. Coli* son BLEE positivas, originando un problema serio para el tratamiento médico.

Referencias

- Astete, S., Madrid, L., Fukuda, F. F., Meritens, A. B. De, & Menchola, J. V. (2004). Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza Antibiotic sensitivity of bacteria causing urinary tract infections, *17*(1), 5–8. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rspmi/v17n1/a02v17n1>
- Cubillos, D. (2009). *Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género Salmonella en una población de Crocodylus intermedius y testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de biología tropical Roberto Franco E.B.T.R.B de la Facultad de Ciencias*. Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio. Recuperado de <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis198.pdf>
- Díaz, A. E. (2008). De la bacteriuria asintomática a la infección de vías urinarias: ¿tatarla o no hacerlo? *Universidad Médica de Bogotá*, *49*(2), 2–12. Recuperado de <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v49n2/6-BACTERIANA.pdf>
- Echevarría, J., Sarmiento, E., & Osorio, F. (2006). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Med Per*, *23*(1), 26–31. Recuperado de <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- García, C. (2012). Enterobacterias productoras de -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. *Acta Med Per*, *29*(3), 163–169. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v29n3/a07v29n3.pdf>
- García, F. (2001). Resistencia bacteriana a antibióticos. *Acta Médica Costarricense*, *43*(3), 101–102. Recuperado de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022001000300001&lng=en&tlng=es
- Gobernado, M. (2005). Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev Esp Quimioterap*, *18*(Nº 2), 115–117. Recuperado de <http://www.seq.es/seq/0214-3429/18/2/115.pdf>
- Guajardo, C., González, P., & Ayala, J. (2009). Resistencia antimicrobiana en la infección urinaria por Escherichia coli adquirida en la comunidad . ¿Cuál antibiótico voy a usar? *Salud Pública de México*, *51*(2), 155–159. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0036-36342009000200012&script=sci_arttext&tlng=en
- Perozo, A., & Castellano, M. (2009). Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia Enterobacteriaceae. *I.S.S.N.*, *37*(1), 25–37. Recuperado de <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/4837/4830>
- Prats, G. (2012). *Microbiología y Parasitología Médicas*. Madrid: Médica Panamericana.
- Rosal, A., & Anny, C. (2010). Susceptibilidad de uropatógenos bacterianos en embarazadas. *Universidad Del Oriente*. Recuperado de <http://hdl.handle.net/123456789/4317>
- Tamayo, B., Cabrera, R., & Cardona, J. A. (2015). Estigma social en la atención de personas con VIH / sida por estudiantes y profesionales de las áreas de la salud . *Rev Cienc Salud*, *13*(1), 9–23. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/recis/v13n1/v13n1a02.pdf>
- Valdevenito, J. P. (2008). Infección urinaria recurrente en la mujer. *Rev Chil Infect*, *25*(4),

268–276. Recuperado de <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v25n4/art04.pdf>