



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIAY BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE
INVESTIGACIÓN
“DR. JOSÉ RAFAEL LUNA”**



**Morfotipos bacterianos y leucocitos con el aislamiento e identificación
de los microorganismos en muestras de orina en adultos.**

www.bdigital.ula.ve

**Autor:
Jesús Manuel Cepeda.
Tutora:
MSc. Rían Grimaldos**

Mérida, Noviembre del 2021.



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“DR. JOSÉ RAFAEL LUNA”



**Morfotipos Bacterianos y Leucocitos en el Gram Relacionados con
Aislamiento e Identificación en Muestras de Orina de Adultos.**

Tesis de grado como requisito parcial para optar al título de

LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

www.bdigital.ula.ve

Autor:
Jesús Manuel Cepeda.
C.I: V-20.040.095
Tutora:
MSc. Rían Grimaldos

Mérida, Noviembre del 2021

DEDICATORIA

La vida puede parecer corta pero también es lo suficientemente larga como para que podamos hacer que pasen cosas grandiosas. Aquí está el fruto del esfuerzo, en los que muchos creyeron que fuese posible, hoy quiero dedicarles este logro.

Ante todo le doy gracias a Dios, por darme paciencia, constancia y perseverancia cada día, iluminándome en cada paso a seguir haciéndome más seguro.

A mi Madre por todo su apoyo, ayuda y confianza en todo momento, por todas sus palabras de aliento en los momentos más difíciles de mi carrera, madre sin ti no lo hubiese logrado.

A la ilustre Universidad de los Andes por permitirme vivir de las mejores experiencias en la vida, mis profesores quienes fueron luz en el camino y a todas las personas que fueron clave en mi formación profesional.

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE CONTENIDO

	Pg.
VEREDICTO	lii
DEDICATORIA	lv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	lx
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema	3
Justificación e importancia de la investigación	7
Objetivos de la Investigación	9
Alcances y Limitaciones de la Investigación	10
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos	11
Antecedentes Históricos	14
Bases Teóricas	15
Aproximaciones teóricas sobre la Infección del Tracto Urinario (ITU)	15
Aproximación teórica sobre el diagnostico presuntivo de infecciones a través de la coloración de Gram	25
Definición Operacional de Términos	29
Operacionalización de Variables	31
CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO	
Tipo de Investigación	33
Diseño de la Investigación	33
Población y Muestra	34
Sistema de Variables	35

Instrumento y Recolección de Datos	35
Procedimiento de la investigación	36
Diseño de Análisis	40
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Resultados	41
Discusiones	58
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES	
Conclusiones	62
Recomendaciones	63
BIBLIOHEMEROGRAFIA	64
ANEXOS	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pg
Figura 1. Diferencias en la Estructura de la Pared Celular entre Microorganismos grampositivos y gramnegativos.	26
Figura 2. Tinción de Gram positivas y Gram negativas.	27
Figura 3. Esquema de la técnica de la Tinción de Gram	37
Figura 4. Método de asa calibrada para Urocultivos.	38
Figura 5. Esquema de procedimiento de la investigación.	39
Figura 6. Distribución del sexo de los pacientes.	42
Figura 7. Edad de los pacientes.	43
Figura 8. Procedencia, hospitalaria o de la comunidad de los pacientes	44
Figura 9. Factores Subyacentes de los pacientes.	45
Figura 10. Pacientes bajo tratamiento	46
Figura 11. Contaje del promedio de leucocitos en examen directo de sedimento urinario	47
Figura 12. Microorganismos identificados en las muestras de orina, analizadas mediante la tinción de Gram.	48
Figura 13. Contaje de Leucocitos PMN en el Gram	51
Figura 14. Resultados del urocultivo realizado a las muestras de estudio	53
Figura 15. Correlación del contaje de PMN con los resultados de urocultivos.	54
Figura 16. Distribución de los microorganismos aislados de las muestras de orina.	56

ÍNDICE DE TABLAS

	Pg
Tabla 1. Operacionalización de la Variable independiente	32
Tabla 2. Operacionalización de la Variable Dependiente	32
Tabla 3. Distribución del género de los pacientes	41
Tabla 4. Edad de los pacientes	42
Tabla 5. Procedencia, hospitalaria o de la comunidad de los pacientes	43
Tabla 6. Factores subyacentes de los pacientes	44
Tabla 7. Pacientes bajo tratamiento	45
Tabla 8. Promedio leucocitos en examen directo de sedimento urinario	46
Tabla 9. Identificación de la morfología bacteriana según la coloración de Gram en las muestras de orina analizadas	48
Tabla 10. Promedio de Leucocitos polimorfonucleares en el Gram	50
Tabla 11. Cultivo de los pacientes	51
Tabla 12. Características de los pacientes con urocultivo positivo	52
Tabla 13. Correlación del conteo de PMN con urocultivos de las muestras de orina	53
Tabla 14. Identificación de los microorganismos aislados a partir de las muestras analizadas	55
Tabla 15. Resultados inferenciales de las pruebas diagnósticas	57



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“DR. JOSÉ RAFAEL LUNA”

**Morfotipos Bacterianos y Leucocitos en el Gram Relacionados con
Aislamiento e Identificación en Muestras de Orina de Adultos**

Autor: Jesús Manuel Cepeda.
Tutora: MSc. Rían Grimaldos.

RESUMEN

Las infecciones del tracto urinario constituyen un importante problema de salud que afecta a millones de personas cada año, se hallan entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. El examen microscópico de las muestras clínicas es de gran importancia en la orientación del diagnóstico, además de permitir convalidar la calidad, también permite observar la presencia o no de microorganismos en las muestras, por sus características morfológicas o propiedades de tinción particular. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue analizar la correlación de los morfotipos bacterianos y leucocitos polimorfonucleares en la coloración de Gram, con el aislamiento e identificación bacteriana en urocultivos de adultos en la ciudad de Valera Estado Trujillo, durante el mes de Marzo del 2019. La investigación fue de tipo analítica, con diseño de campo, la n muestral fue de 150 pacientes. Se realizó análisis de asociación de las variables con intervalo de confianza (IC) de 95% e interpretando el nivel de significancia estadística (α) menor a 0,05. Los valores de validez predictiva obtenidos con la coloración de Gram para recuento de leucocitos polimorfonucleares (PMN) fueron S: 56,7%, E: 58,3%, VPP: 61,5%, VPN: 53,4%, para la identificación morfológica bacteriana se obtuvo S: 55,9%, E: 44,6%, VPP: 47,9% y VPN: 52,6%. La sensibilidad y especificidad del método depende del punto de corte del conteo de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y la cantidad de bacterias en el frotis, ya que el recuento escaso de bacterias y conteos menores de 4 leucocitos por campo aumentan los posibles falsos negativos.

Palabras clave: morfotipos bacterianos, aislamiento, identificación, coloración, Gram, leucocitos, urocultivos.



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“DR. JOSÉ RAFAEL LUNA”



Bacterial Morphotypes and Gram Leukocytes Related to Isolation and Identification in Adult Urine Samples

Autor: Jesús Manuel Cepeda.

Tutora: MSc. Rían Grimaldos.

ABSTRACT

Urinary tract infections are a major health problem that affects millions of people each year, they are among the most common infectious diseases. The microscopic examination of clinical samples is also of great importance in the orientation of the diagnosis, to allow validating the quality, it also allows to observe the presence or not of microorganisms in the samples, due to their morphological characteristics or particular staining properties. Therefore, the objective of this research was to analyze the correlation of bacterial morphotypes and polymorphonuclear leukocytes in Gram staining, with the isolation and identification of bacteria in adult urine cultures in the city of Valera, Trujillo State, during the month of March 2019. The research was analytical, with a field design, the sample n was 150 patients. An association analysis of the variables with a 95% confidence interval (CI) was performed and the level of statistical significance (α) less than 0.05 was interpreted. The predictive validity values obtained with the Gram stain for the polymorphonuclear leukocyte count (PMN) were S: 56.7%, E: 58.3%, PPV: 61.5%, NPV: 53.4%, for the Bacterial morphological identification was obtained S: 55.9%, E: 44.6%, PPV: 47.9% and NPV: 52.6%. The sensitivity and specificity of the method depended on the cut-off point of the polymorphonuclear leukocytes (PMN) count and the amount of bacteria in the smear, since the low count of bacteria and counts less than 4 leukocytes per field showed possible false negatives.

Key words: bacterial morphotypes, isolation, identification, staining, Gram, leukocytes, urine cultures.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad infecciosa más importante y frecuente que padece el ser humano es la infección del tracto urinario (ITU), la cual constituye un importante problema de salud que afecta a millones de personas cada año. La ITU se define como la presencia y proliferación de microorganismos patógenos en cualquier porción del aparato urinario con o sin presencia de síntomas. Está asociada comúnmente con la migración patógena ascendente, principalmente de bacilos aeróbicos Gram negativos provenientes del tracto gastrointestinal, tanto en hombres como en mujeres.

Entre las pruebas y los procedimientos utilizados en el laboratorio para diagnosticar las ITU, se incluyen el análisis de orina, como presuntivo, y la realización de urocultivo, como diagnóstico confirmatorio. Por lo tanto, el papel del laboratorio de microbiología clínica consiste en aislar patógenos potenciales en muestras de orina e identificar el agente etiológico para evaluar la susceptibilidad a antimicrobianos, así evitar el riesgo de uso de antibióticos frente a cepas que presentan resistencia a los mismos.

De acuerdo a esto, el examen microscópico de las muestras de orina es parte fundamental y de gran importancia en dichos análisis. No solo puede convalidar la calidad de las muestras, sino también, combinado con algunas técnicas de tinción, orienta en la identificación de algunos patógenos por sus características morfológicas y/o propiedades de tinción particular. Se considera que en ciertas infecciones el diagnóstico microscópico es altamente sensible y específico.

En particular, la coloración de Gram es un método sencillo, rápido y predictor de la infección urinaria, ya que aparte de la información sobre la presencia de las células de descamación y leucocitos, tiene ventaja de detectar distintos morfotipos de microorganismos.

Por consiguiente, el objetivo de esta investigación fue analizar de qué manera se correlacionan los morfotipos bacterianos y los leucocitos

polimorfonucleares en la coloración de Gram, con el aislamiento e identificación bacteriana en urocultivos de adultos en la ciudad de Valera Estado Trujillo durante el mes de marzo del 2019.

Para la sistematización de la investigación fue necesario organizar el contenido del manuscrito en 5 capítulos. En el Capítulo I, denominado El Problema, se consideraron los siguientes puntos: Planteamiento del problema, justificación e importancia de la investigación, objetivos de la investigación, alcances y limitaciones de la investigación. En el capítulo II, denominado Marco Teórico, se desarrollaron los siguientes apartados: Trabajos previos, antecedentes históricos o epistemológicos, bases teóricas, definición operacional de términos, operacionalización de variables. En el capítulo III, denominado Marco Metodológico, se describieron los siguientes aspectos: Tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra, instrumento de recolección de datos, procedimiento de la investigación y diseño de análisis. En el capítulo IV, se exponen los Resultados y Discusión. Asimismo, en el capítulo V, se plasman las Conclusiones y Recomendaciones obtenidas de la investigación.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La infección del tracto urinario (ITU) se define como la presencia y proliferación de microorganismos patógenos en cualquier porción del aparato urinario con o sin presencia de síntomas. Es considerada como el problema de salud más importante del ser humano y la segunda enfermedad más frecuente después de las infecciones respiratorias. Está asociada comúnmente con la migración patógena ascendente, principalmente de bacilos aeróbicos Gram negativos provenientes del tracto gastrointestinal, tanto en hombres como en mujeres (Schaeffer y Schaeffer, 2012), con una prevalencia significativa en el sexo femenino, ya que más del 50% de mujeres ha presentado esta patología al menos una vez durante su vida, aumentando su incidencia durante el embarazo.

Existe una gran diferencia entre la frecuencia de ITU en mujeres y hombres a nivel mundial, alcanzando una proporción de 30:1 de las primeras con respecto a hombres jóvenes. Sin embargo, conforme el hombre envejece, esta proporción tiende a igualarse. Se estima que en el adulto mayor, es la infección bacteriana más común y el origen más frecuente de bacteriemias (Echavarría, Sarmiento y Osorio, 2006)

La ITU, según su localización anatómica se puede clasificar en alta (afecta uréter, sistema colector o parénquima) o baja (afecta uretra o vejiga). Entre las patologías que ocasiona, la más frecuente es la cistitis, la cual se asocia con infección baja y la pielonefritis que afecta la parte alta del sistema renal

(Vizcaya y cols., 1999). En la pielonefritis los signos y síntomas de la infección comprometen el estado general del paciente de manera aguda, muy comúnmente con fiebre y dolor lumbar. Por otro lado, en las cistitis la mucosa vesical se encuentra inflamada, no hay fiebre y el paciente presenta síntomas urinarios como urgencia, tenesmo, disuria y polaquiuria (Oconitrillo, 2016).

El diagnóstico de estas enfermedades se realiza sobre la base de los signos y síntomas clínicos que presenta el paciente, los datos epidemiológicos y la demostración del agente causal o las huellas que éste ha dejado en el sistema inmunológico del individuo (Drew, Cokerril y Henry, 2011).

Entre las pruebas y los procedimientos utilizados en el laboratorio para diagnosticar las ITU, se incluyen el análisis de orina, como presuntivo, y la realización de urocultivo, como diagnóstico confirmatorio. No obstante, se han diseñado numerosos métodos para determinar bacteriuria significativa además del urocultivo: microscópico, químico, bioquímico, enzimáticos, entre otros, pero un número mínimo logra ofrecer un resultado rápido y eficiente, con un costo adecuado y sencillez en la realización del análisis (Pezzlo y York, 2004).

El papel del laboratorio de microbiología clínica consiste en determinar la presencia de patógenos potenciales en muestras de orina e identificar el agente etiológico para evaluar la susceptibilidad a antimicrobianos, así evitar el riesgo de uso de antibióticos frente a cepas que presentan resistencia a los mismos. Este servicio es indispensable para el médico tratante, porque la información acerca de la identidad del patógeno es de importancia primordial para predecir el curso de la infección y orientar o decidir la conducta terapéutica más apropiada.

Según Engleberg (1994) y Drew, Cokerril y Henry, (2011), esta información puede obtenerse por medio de:

- El cultivo y la identificación de los microorganismos a partir de muestras clínicas.
- El examen microscópico de la muestra clínica.

- La medición o cuantificación de la respuesta inmune específica para el patógeno en el paciente.

El valor diagnóstico del examen microscópico depende de la muestra que se analiza, en el caso de muestras de orina es una prueba de informe inmediato, así como también para líquido cefalorraquídeo, líquidos corporales, esputo, sangre, abscesos, y secreciones (uretral, cervical y vaginal). Es de uso limitado en muestras de materia fecal y no tiene valor diagnóstico en muestras faríngeas y nasofaríngeas ya que la microbiota habitual comparte características con los patógenos de esas áreas anatómicas (Agudelo y Castañeda 1998).

El examen microscópico de la orina se puede efectuar mediante la visualización del sedimento urinario entre lámina o laminilla, con o sin colorantes vitales, pero también se puede realizar la tinción de un extendido, como la coloración de Gram, esta última tiene como importancia que proveen información sobre la morfología y propiedades tintoriales de las bacterias presentes en la muestra, lo cual facilita la orientación del diagnóstico microbiológico y el inicio de la terapia antimicrobiana empírica, mientras se esperan los resultados del cultivo. Adicionalmente, este examen directo brinda una valiosa información para el control de calidad con base a su correlación con los aislamientos recuperados (Drew, Cokerril y Henry, 2011).

La tinción de Gram tiene la ventaja de estar disponible en cualquier laboratorio, es un método fácil de realizar, muy económico y permite no sólo detectar la presencia de bacterias, sino también discriminar entre las infecciones mono y polimicrobianas, así como descartar orinas contaminadas, además de estructuras celulares sugestivas de cada patología. Entre las desventajas de esta coloración se puede mencionar que requiere más tiempo, es subjetiva y depende de la experiencia del observador (Zboromyrska y col., 2019).

Esta técnica puede ser usada como cribado para selección de orinas positivas, si se requiere la aplicación de las técnicas rápidas de diagnóstico.

Se considera que tiene una sensibilidad del 95% cuando se aplica en muestras de orina no centrifugada (Lozano, 2001).

Aunque es una técnica poco usada debido al gran número de orinas que se reciben y no puede ser aplicada a todas las muestras en muchos laboratorios, aplicándose a los casos seleccionados, permite un diagnóstico orientativo de microorganismo causante de ITU y puede ayudar a dirigir el tratamiento empírico, sobre todo en urosepsis y en niños de corta edad (Zboromyrska y col., 2019).

Es evidente que, si los patógenos bacterianos pueden ser visualizados y agrupados con la coloración de Gram de forma morfológica y funcional de acuerdo a sus propiedades tintoriales, las estrategias de identificación definitivas del patógeno y la selección de los antibióticos a probar en el antibiograma se establecen a partir de esta técnica. Por lo tanto, debe existir una relación de identificación previa de morfología bacteriana y estructuras celulares presentes en las muestras con los identificados mediante crecimiento y aislamiento en cultivos *in vitro*.

Por consiguiente, unificados los aspectos que dieron origen a la problemática de investigación, el autor de esta investigación se formuló el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la relación entre los morfotipos bacterianos y leucocitos polimorfonucleares identificados a través de la tinción de Gram con el aislamiento e identificación bacteriana en urocultivos de adultos en la ciudad de Valera Estado Trujillo?

Justificación e importancia de la investigación

La justificación debe responder a los por qué o racionalidad de la investigación. Específicamente, por esta razón pueden ser categorizadas como necesidades, curiosidades y preocupaciones, motivaciones, intereses, valores, potencialidades, oportunidades, tendencias, contradicciones (Hurtado, 2010).

El autor de la investigación, identificó que, la infección del tracto urinario (ITU) es causada por un número limitado de bacterias conocidas como especies uropatógenas. La muestra de orina para urocultivo es la más frecuentemente recibida y procesada en los laboratorios de microbiología. Aproximadamente 20 a 22 % de los urocultivos tienen un resultado positivo (García y cols., 2001).

El examen para confirmar la sospecha de ITU es el análisis general orina y urocultivo, sin embargo, se han estudiado numerosos métodos de muestreo rápido para la detección de bacteriurias y leucociturias con significado patológico, siendo el examen microscópico la técnica más adecuada (Cardona Rojas y Zabalega, 2008).

El diagnóstico de la ITU se realiza mediante cultivo de orina (urocultivo) que permite cuantificar el número de bacterias presentes en esa muestra. Aunque este análisis microbiológico sigue siendo la técnica de referencia para la determinación de ITU, su desventaja se relaciona con el tiempo que tarda en obtener los resultados. Por lo tanto, se han desarrollado numerosas técnicas de análisis rápido que permite realizar un diagnóstico presuntivo de ITU e instaurar un tratamiento precozmente (De Cuento, 2013).

Se ha buscado la posibilidad de disponer de métodos basados en estudios microscópicos, económico y sencillo, que identificara la presencia y morfología de bacterias y de leucocitos en las muestras de orina, para un diagnóstico de infección urinaria rápido, asequible y además, que pueda influir en la toma de

decisiones para un tratamiento temprano y mejor rendimiento en el procesamiento de urocultivos (Cardona, Rojas y Zabalega, 2008).

Un examen minucioso de un extendido de la muestra teñido diferencialmente, provee una información muy importante sobre la caracterización morfológica bacteriana. Por ejemplo, una coloración positiva o negativa de la bacteria utilizando la Tinción de Gram es sumamente importante como medio primario de clasificación bacteriana. Por otra parte, dicha coloración en las muestras de orina para urocultivo permite evaluar el tipo de bacteria, la presencia de piuria y determinar si hubo una adecuada recolección de la muestra. En una infección urinaria es de gran importancia identificar el agente etiológico lo más pronto posible, para entablar un tratamiento oportuno, prevenir reincidencias y cronicidad, evitando el daño renal que puede ser fatal para el paciente (Arámbula, 2004).

Por lo tanto, es importante establecer protocolos de actuación inmediata en el laboratorio que ayuden a orientar de forma efectiva y eficaz el diagnóstico de una determinada patología, en este caso la ITU, como herramientas de procesamiento que permitan obtener un resultado oportuno, certero y de rápido acceso, para emitir un informe presuntivo con alta sensibilidad y especificidad en cuanto al método de detección. Es allí donde se justifica el uso de la técnica de coloración de Gram como prueba primaria y de reporte inmediato en el estudio de infecciones urinarias.

Una de las pruebas más requeridas en el Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs, en el área de microbiología, es el urocultivo. De manera que, con el presente estudio se pretendió analizar la correlación de los morfotipos bacterianos y leucocitos PMN determinados a través de la coloración de Gram con el aislamiento e identificación de microorganismos en urocultivos, con el fin de dejar las bases para futuros protocolos de procesamiento de las muestras de orinas que se emitan para examen microbiológico y esquematizar el proceso de identificación bacteriana

partiendo de lo observado en el Gram, mejorando así el rendimiento, en cuanto a tiempo y costos, de estas pruebas.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Analizar la correlación de los morfotipos bacterianos y leucocitos polimorfonucleares en la coloración de Gram, con el aislamiento e identificación bacteriana en urocultivos de adultos en la ciudad de Valera Estado Trujillo durante el mes de marzo del 2019.

Objetivos Específicos

- Recaudar información clínica y epidemiológica de los pacientes que serán objeto de estudio.
- Clasificar las muestras a analizar según su procedencia, hospitalaria o de la comunidad.
- Cuantificar los leucocitos polimorfonucleares en el examen microscópico del sedimento urinario.
- Realizar la coloración Gram a cada una de las muestras de orina.
- Identificar los microorganismos basándose en los métodos microbiológicos establecidos en la identificación bacteriana.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Hernández, Fernández y Baptista 2010, refirieron que los alcances de la investigación están relacionados con el contínuum de conocimientos que se quieren obtener, a la vez, Hurtado (2010), refirió que el alcance es el producto del grado de elaboración del proceso de investigación. En tal sentido, el presente estudio buscó relacionar la determinación de elementos estructurales presentes en las muestras de orina sugestivos de infección bacteriana medidos mediante el método de tinción de Gram con los resultados de urocultivos e identificación bacteriana realizados a las mismas muestras. Con el fin de sugerir este método como prueba primaria, de informe inmediato, en el análisis de muestras de orina de pacientes con diagnóstico de ITU, previa a la realización del urocultivo en el Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs. Pudiéndose establecer como una herramienta rutinaria de orientación clínica.

En cuanto a las limitaciones de dicha investigación se consideraron los siguientes: el tiempo para el desarrollo del diseño experimental, la poca disponibilidad de recursos materiales y financieros que obstaculizaron el avance de la investigación y el alcance de los objetivos.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

Trabajos Previos

Aycachi en 2019, público la investigación titulada correlación entre el examen completo de orina con el urocultivo para el diagnóstico de infecciones urinarias en pacientes adultos del Hospital II Huaycán 2017 – 2018, Perú. Su objetivo fue determinar la correlación entre el examen completo de orina con el urocultivo para el diagnóstico de infecciones urinarias, la metodología empleada fue de enfoque cuantitativo, con diseño no experimental y corte transversal, retrospectivo. El tipo de muestreo fue todos los pacientes con resultados de urocultivo y examen completo de orina del servicio de medicina interna que asistieron a dicho centro asistencial en el mismo periodo de tiempo.

Los resultados mostraron que la mayoría de pacientes eran del género femenino, y que el microorganismo más frecuente fue *Escherichia coli*. Además, con el punto de corte de ≥ 5 leucocitos por campo se tiene una Sensibilidad (S) de 80,25%, Especificidad (E) de 46,6%; Valor Predictivo Positivo (VPP) de 34,8% y un Valor Predictivo Negativo (VPN) de 86,9%; según el análisis estadístico por Curva ROC el punto de corte ideal debería de ser con leucocitos ≥ 12 por campo S:62,7%, E: 71,3%; VPP:43,7% y un VPN de 84,3%), con lo que se obtiene un 70% de probabilidades que el urocultivo sea positivo; Los nitritos con una S: 30%, E: 97,5%, VPP de 80,9% y un VPN de 79,7%.

En conclusión, el examen completo de orina tiene buena correlación con el urocultivo para el diagnóstico de infecciones urinarias, sin embargo, debería de usarse como método de descarte por su baja sensibilidad, y elevada especificidad; además el punto de corte ideal para definir si la leucocituria es positiva debería de ser ≥ 12 leucocitos/campo en el sedimento urinario.

Añamuro (2018), también realizó un estudio titulado: Relación entre el diagnóstico de infección del tracto urinario mediante coloración de Gram y urocultivo en gestantes, el objetivo fue relacionar esta técnica de tinción con el urocultivo para el diagnóstico de infección del tracto urinario en pacientes gestantes con 7 meses en el Centro de Salud Caracoto - Perú, reduciendo el tiempo del resultado y optimizando el tratamiento. La investigación fue de diseño no experimental, de corte transversal, descriptivo, prospectivo -, donde se seleccionaron a 50 pacientes a los que se les procesó la orina sin centrifugar para la coloración de Gram y cultivos, se utilizó el recuento de 20 campos considerando 1 o más bacterias por campo equivalente a 10^5 UFC/mL, según el estudio que se realizó en Lima. Posterior a eso, se realizó el diagnóstico microbiológico siguiendo la metodología estandarizada para el urocultivo. El examen directo se efectuó antes de los 30 min después de obtenerse la muestra, en la cual se observaron 30 muestras con cocos Gram positivos, 10 de ellas con cocos escasos, 20 con bacilos Gram negativos. Se obtuvieron los siguientes resultados: 10 cultivos negativos, 20 cultivos positivos, aislándose *Escherichia coli* y otros 20 con *Staphylococcus coagulasa* negativas. Los autores afirman que existe una relación directa entre los hallazgos encontrados en la coloración de Gram y el desarrollo bacteriano obtenido en los cultivos.

Mujica (2018), evaluó la coloración Gram y sedimento urinario en conjunto como método de tamizaje previo al urocultivo en muestras de orina recolectadas en el servicio de emergencia en un Hospital Nacional del Perú durante el año 2017. En el cual se estudiaron 263 muestras de orina del servicio de emergencia del Hospital. A cada muestra se le realizó la coloración

de Gram y análisis del sedimento urinario y se compararon con sus respectivos urocultivos. Se utilizó un sistema de puntuación para el análisis de las variables de coloración y sedimento. Para un resultado positivo se le asignó un puntaje de 1 y para un resultado negativo el puntaje de 0. Finalmente, los resultados de ambos métodos, se compararon con el urocultivo. El nivel de concordancia se calculó usando el índice Kappa, curva ROC, regresión logística binaria, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Se encontró concordancia moderada a considerable de las variables analizadas con una significancia de $p < 0,01$. La coloración Gram tuvo una sensibilidad y especificidad del 89,9% y 86,7%, respectivamente; un valor predictivo positivo de 74,7% y un valor predictivo negativo de 94,7%. El sedimento urinario tuvo una sensibilidad del 74,0% y una especificidad del 81,2%, un valor predictivo positivo de 63,5% y un valor predictivo negativo de 87,6%. La coloración de Gram y el sedimento urinario en conjunto presentaron una sensibilidad de 95,9% y una especificidad de 72,1%, valor predictivo positivo de 60,3% y valor predictivo negativo de 97,5%. Para todos los casos el nivel de significancia fue de $p < 0,01$. Los autores concluyeron que la coloración Gram y sedimento urinario en conjunto demuestran, que, como método de tamizaje, predicen el resultado del urocultivo.

Antecedentes Históricos

Desde los inicios de la bacteriología, la coloración de Gram se ha convertido en una herramienta fundamental para la clasificación e identificación morfológica bacteriana. Fue ideada por el danés Hans Christian Joachim Gram (1853-1938), un investigador que trabajaba en el laboratorio de Carl Friedlander, el descubridor de la *Klebsiella pneumoniae* (Ledermann, 2003). Friedlander había mencionado la técnica de su ayudante en una publicación de 1883, sin darle la valoración debida y el 15 de marzo de 1884 Gram hizo su propia publicación.

En los años siguientes la utilidad de la técnica se hizo evidente, hasta que, en 1889, en la famosa serie de los *Précisde*, que publicaba la editorial *Mason et fils* en París, en el de Microbiología se recomienda someter a todos los cultivos a la tinción de Gram, como primera orientación diagnóstica (Thoint y Masselin, 1889). A pesar de que con este valioso aporte Hans C. J. Gram entraba en la galería de los inmortales, se cree que no supo valorar la trascendencia de su método de coloración y esto se pudo observar cuando escribió "He publicado un método, aunque estoy consciente de que todavía es defectuoso e imperfecto; pero deseo que en manos de otros investigadores pueda resultar de utilidad". Hoy en día la coloración de Gram es uno de los pilares del diagnóstico temprano de las infecciones bacterianas. Posteriormente, el conocimiento de las estructuras de la pared celular bacteriana, en cuanto al aspecto físico y su composición molecular demostraron que la coloración de Gram distingue dos grupos de bacterias muy diferentes: las Gram positivas y las Gram negativas (Santiago, 2003).

Bases Teóricas

Aproximaciones teóricas sobre la Infección del Tracto Urinario (ITU)

La infección del tracto urinario (ITU) indica la presencia de microorganismos en cualquier sitio normalmente estéril del tracto urinario, ocasionando usualmente una respuesta inflamatoria aguda y sintomática (López y Campuzano, 2013).

En el aparato urinario se debe diferenciar dos elementos con distinto comportamiento inmunológico: el parénquima (formado por la corteza y médula renal, la próstata, el testículo y epidídimo) y las vías urinarias, que se inician en los cálices renales, continúan con la pelvis renal, uréter y vejiga, y finalizan en la uretra. Las infecciones que se originan tanto en el parénquima como en las vías urinarias pueden a su vez ser complicadas o no. Las primeras implican que existe una alteración orgánica o funcional del aparato urinario que es responsable de esa bacteriuria. En las no complicadas, por el contrario, los actuales métodos diagnósticos son incapaces de poner de manifiesto cualquier tipo de alteración. En consecuencia, es la bacteriuria el único hallazgo (Lozano, 2001).

Síndromes clínicos relacionados con la ITU

Bacteriuria asintomática:

De acuerdo con las guías de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA), se define la bacteriuria asintomática, en las mujeres, como dos urocultivos consecutivos, recolectados por micción espontánea, con el aislamiento de la misma cepa bacteriana, y con un recuento ≥ 100.000 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), en ausencia de síntomas; en los hombres se define igual, pero solo se requiere de un

urocultivo. En ambos sexos, cuando la muestra se recolecta por sonda evacuante, solo se necesita de un urocultivo positivo, con un tipo de bacteria, y un recuento $\geq 10^2$ UFC/mL (Nicolle y col., 2005).

Infección del tracto urinario aguda no complicada (cistitis):

Es la infección sintomática del tracto urinario inferior (vejiga) en una mujer adulta, sin otra complicación, no embarazada y sin anomalías anatómicas o funcionales del tracto urinario. Su sintomatología incluye polaquiuria, urgencia urinaria, disuria o dolor suprapúbico. Se debe realizar el diagnóstico diferencial con uretritis y vaginitis. Aunque la cistitis se puede presentar en los hombres, es poco común y es por ello que las infecciones del tracto urinario siempre se califican como complicadas en este sexo. Igualmente, en los niños toda infección del tracto urinario se considera como complicada (Schmiemann y col., 2010).

Pielonefritis aguda no obstructiva:

Es la infección que involucra al riñón y a la pelvis renal, se acompaña de dolor en el ángulo costovertebral y usualmente cursa con fiebre. Es importante mencionar que los criterios clínicos no son muy confiables para discriminar entre la ITU aguda no complicada y la pielonefritis aguda no obstructiva (López y Campuzano, 2013).

Infección del tracto urinario complicada:

Infección que se presenta en el riñón, la vejiga o ambos, y que ocurre en una persona con anomalías funcionales o estructurales del tracto genitourinario o en un hospedero inmunocomprometido, independiente de la causa. Las ITU que ocurren en presencia de un catéter o sonda vesical también se consideran como complicadas. En los hombres es poco frecuente la ITU aguda no complicada y es por ello que generalmente se califica como complicada. De igual forma, las ITU en pacientes con diabetes mellitus

(cuestionado por algunos autores), disfunción del vaciado vesical, insuficiencia renal, riñones poliquísticos, urolitiasis o con antecedentes de cirugía de tracto urinario, así como en niños menores de 12 años o en gestantes, se deben considerar como complicadas (Hummers y Kochen, 2002).

Epidemiología de la ITU

Las ITU representan la primera causa de consulta médica en mujeres en edad reproductiva, durante el embarazo es la causa más frecuente de complicaciones perinatales serias y es la segunda causa de indicación empírica de antibióticos. Estas infecciones pueden ocurrir tanto en hombres como en mujeres, sin embargo, en mujeres es dos veces más frecuente que en hombres; en ellos generalmente se considera como ITU complicada debido a los factores urológicos que la acompañan y a la implicación de la próstata como órgano parenquimatoso. La diferencia en la incidencia de ITU en hombres y mujeres se explica por la mayor distancia del meato uretral y el ano en los hombres, un ambiente más seco en la abertura uretral, una uretra más larga y la actividad antibacteriana de las secreciones de próstata. Recientemente se ha descubierto que el antígeno prostático específico (PSA) también actúa como defensa, contribuyendo al aclaramiento y a la muerte directa de *Escherichia coli*. Un tercio de las mujeres son diagnosticadas con ITU antes de los 24 años de edad, hasta en un 50-70% pueden presentar un episodio de ITU a lo largo de su vida y un 20-30% de riesgo de que se repita. Las ITU representan un gran problema en la salud de los individuos incluyendo su salud mental ya que más de la mitad de estos pacientes sufren de depresión y un 38,5% sufren de ansiedad con una gran mejoría de estos padecimientos con el adecuado tratamiento y profilaxis (Solano, Solano y Ramirez, 2020).

Etiología de la ITU

En más del 95% de los casos, un único microorganismo es el responsable de la ITU. El agente etiológico más frecuente de ITU en ambos géneros es *Escherichia coli*, responsable del 75% a 80% de casos; el 20% a 25% restante incluye microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* sp, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Durante el embarazo los agentes causantes de ITU son los mismos en frecuencia que los hallados en las mujeres no embarazadas; sin embargo, es posible detectar en menor medida *Enterococcus* sp, *Gardnerella vaginalis* y *Ureaplasma urealyticum*. En el caso de la ITU complicada e infecciones asociadas a cuidados de salud, la *Escherichia coli* sigue siendo el principal agente causante, pero la presencia de *Klebsiella* sp, *Citrobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* y de gérmenes Gram positivos como *Staphylococcus epidermidis* meticilinoresistente y *Enterococcus* sp. se incrementa. Los pacientes sondados suelen presentar infecciones polimicrobianas. Hongos, como *Candida* sp, suelen ser encontrados en pacientes diabéticos, inmunosuprimidos o que están recibiendo antibióticos de amplio espectro; más raros y, principalmente, en pacientes inmunodeprimidos pueden ser aislados *Aspergillus* o *Criptococcus* en orina (Echevarría, Sarmiento y Osorio, 2006).

Diagnóstico de la ITU

El diagnóstico de la ITU se debe basar en la integración de signos, síntomas y hallazgos de laboratorio. En condiciones normales, la orina es estéril, aunque puede contaminarse a su paso por la uretra. Cuando existe una contaminación microbiana del aparato urinario, con enfermedad o sin ella, la forma más fácil

de detectarla es buscar la presencia de estos microorganismos en orina (Lozano, 2001).

1. Uroanálisis

El uroanálisis, también conocido como citoquímico de orina, es el principal examen en el cual se apoya la mayoría de los diagnósticos de ITU por el laboratorio, y se basa en el estudio químico semicuantitativo realizado con la tirilla reactiva de orina, como la detección de nitritos, esterasas leucocitarias y eritrocitos, y el análisis citológico del sedimento urinario por medio de microscopía o métodos automatizados, para identificar la presencia de leucocitos (piuria), bacterias, levaduras y eritrocitos (López y Campuzano, 2013).

El uso de tiras reactivas es recomendable como aproximación diagnóstica, de las cuales se puede determinar:

- Leucocitoesterasa: es un indicador indirecto de la presencia de leucocitos en la orina. Tiene una sensibilidad del 90% y especificidad del 92% (la tasa de falsos positivos es del 8%).
- Nitritos: Es un indicador de la presencia de esta sustancia en la orina, como resultado de la degradación de los nitritos urinarios por parte de algunos tipos de bacterias. La sensibilidad es del 35-85% y especificidad del 92-100%.
- Realización conjunta esterasa leucocitaria/nitritos: Puede ser de utilidad como pruebas de *screening* en poblaciones de baja prevalencia Su sensibilidad del 88-92% y especificidad del 78-98% (Lozano, 2001; Lopardo, 2013).

Para realizar la observación del sedimento urinario se toman entre 5 y 10 mL de orina en un tubo y se centrifuga a 2000 r.p.m. durante 10 minutos. Se descarta el sobrenadante y se obtiene el precipitado, el cual se resuspende por agitación en el mínimo volumen que queda en el fondo del tubo. Se observa entre porta y cubreobjetos en el microscopio con aumento de 40X. Se

deberá consignar la presencia de leucocitos, hematíes, bacterias, cilindros (especialmente leucocitarios), tipo de cristales y tipo de células. Se promedia el número por campo de leucocitos, hematíes y células para informar el recuento respectivo (Lopardo, 2013).

En el examen microscópico se considera que existe bacteriuria cuando se detecta, mediante la tinción de Gram, una o más bacterias en orina no centrifugada. Se considera que tiene una sensibilidad del 95%. Se considera que existe piuria cuando se detectan, en cinco campos a 400X, de 8 a 10 leucocitos por campo en orina centrifugada a 2.000 r.p.m. durante 5 minutos. Este método se correlaciona hasta en un 95% con las infecciones del tracto urinario sintomáticas (Lozano, 2001).

2. Urocultivo

El cultivo de una muestra de orina continúa siendo el patrón de referencia para las otras pruebas relacionadas con el diagnóstico de la infección del tracto urinario; por lo tanto, demostrar la presencia de una cantidad significativa de bacterias en la orina (bacteriuria) identifica definitivamente esta afección (López y Campuzano, 2013). Por lo tanto, permite aislar los microorganismos causantes y realizar el estudio de sensibilidad para dirigir el tratamiento, además permite realizar una relación cuantitativa detectando el número de bacterias por mililitro de orina, pudiéndose interpretar los resultados según los criterios de Kass (Lozano, 2001).

Medios de cultivo

No existe una norma general sobre el medio de cultivo que hay que usar para cultivar la orina. Los medios más frecuentemente utilizados son los siguientes: CLED (Cysteine lactose electrolyte deficient), agar sangre, MacConkey, un medio cromogénico MPO (medios para orina) solo o junto con agar sangre. A la hora de escoger los medios de cultivo a usar, hay que tener

en cuenta las limitaciones de cada uno. Así, el medio de agar sangre permite la recuperación no solo de los patógenos habituales (algunos géneros del orden Enterobacterales, *P. aeruginosa*, Enterococos, estafilococos, *S. agalactiae* y levaduras), sino también los microorganismos más exigentes que no crecerían o crecerían con dificultad en los medios selectivos y diferenciales, tales como *Corynebacterium urealyticum*, *A. schaalii*, *Aerococcus* spp., algunos estreptococos, etc. Por otra parte, este medio no permite diferenciar bien entre distintos morfotipos de bacilos Gram negativos. El agar MacConkey permite realizar la diferenciación entre los bacilos fermentadores y no fermentadores de lactosa. El medio CLED permite recuperar los microorganismos más frecuentes que causan infección urinaria. En este medio la capacidad invasora de la mayoría de las cepas de *P. mirabilis* se anula, lo que facilita la recuperación de microorganismos en los cultivos polimicrobianos. Se recuperan bien todos los géneros pertenecientes al orden Enterobacterales, los bacilos Gram negativos no fermentadores, así como *Enterococcus*, *Staphylococcus* y la mayoría de las cepas de *S. agalactiae*, pero los microorganismos más exigentes no suelen crecer en este medio. Los medios cromogénicos específicos para infecciones urinarias son diferenciales, que gracias a algunas reacciones bioquímicas, permiten una mejor diferenciación de las colonias (Zboromyrska y col. 2019).

Método de siembra

La siembra de orina se realiza de manera cuantitativa y para ello se usan asas calibradas de 1 μ L o de 10 μ L. Si se siembran 10 μ L una colonia aislada corresponde al recuento de 100 UFC/mL, mientras que si se usa el asa de 1 μ L una colonia corresponde al recuento de 1.000 UFC/mL. Es importante realizar la técnica de siembra de manera correcta y homogénea para disminuir la variabilidad en el volumen de muestra que se inocula. Primero se agita la muestra, para homogeneizarla. Seguidamente, se introduce el asa de forma vertical en la muestra de orina y se retira. En estas condiciones, la cantidad

que queda en el asa es la que corresponde a la calibración. La siembra cuantitativa consiste en realizar una estría a través del centro del agar y luego extender el inóculo en ángulos rectos respecto a la estría primaria. A continuación, la placa se gira 90° y el inóculo se extiende hasta cubrir toda la superficie. Otro tipo de siembra que se usa ampliamente en microbiología es la siembra por agotamiento, que no permite la cuantificación exacta, pero tiene la ventaja de poder discernir con precisión la abundancia relativa de cada tipo de colonia, muy útil en infecciones mixtas o en muestras contaminadas (Zboromyrska y col., 2019; López y Campuzano, 2013).

Condiciones de incubación

La mayoría de las infecciones urinarias están producidas por microorganismos que crecen en 18 horas. Sin embargo, en ciertos grupos de pacientes, con patología urológica y renal de base, o en los pacientes con el urocultivo convencional negativo y que no mejoran de los síntomas urinarios tras el tratamiento antibiótico, el cultivo puede precisar una incubación más prolongada (hasta 48 horas). Las placas de agar sangre y agar chocolate se incubarán a 35-37° en atmósfera rica en CO₂ 5%. El medio CLED, los medios cromogénicos y agar MacConkey se incuban a 35-37°C en aerobiosis (Lopardo, 2013).

Interpretación

- En muestras de punción suprapúbica, cistoscopia o punción renal, con piuria, cualquier recuento es significativo.
- En orina obtenida por sonda vesical con piuria, >100 UFC/mL de orina.
- En orina de micción espontánea (OME) de mujeres con piuria, cilindros leucocitarios, tinción de Gram con microorganismos intraleucocitarios > 100 UFC/mL de orina.
- OME de varón con piuria, cilindros leucocitarios, tinción de Gram con microorganismos intraleucocitarios > 1000 UFC/mL de orina.

- En muestra obtenida por sonda permanente con piuria, > 1000 UFC/mL de orina, puede haber cultivo polimicrobiano.
- OME para diagnóstico de bacteriuria asintomática sin piuria, ≥ 100.000 UFC/mL 2 urocultivos con el mismo patógeno para mujer y 1 urocultivo para hombre (Zboromyrska y cols., 2019).

Identificación

Una vez que se detecta el crecimiento bacteriano en un medio de cultivo para aislamiento inicial o primario, debe determinarse la importancia real de la bacteria que se ha aislado. Luego, se continuará con el proceso de obtener cultivos puros a partir de colonias aisladas y la aplicación de pruebas diseñadas para la caracterización e identificación definitiva de la bacteria. Las pruebas exactas y la estrategia metodológica a seguir varían con los distintos grupos bacterianos, y el nivel taxonómico (género, especie o subespecie) de identificación requerido estará en relación con la utilidad o importancia clínica que se le dé a esa información. Según Velasco (2008), los métodos convencionales para la identificación de los microorganismos se fundamentan principalmente en:

Pruebas bioquímicas: evalúan la capacidad metabólica de un microorganismo relacionado con:

- Los sustratos que puede utilizar la bacteria para crecer (hidratos de carbono, aminoácidos, entre otros).
- Las enzimas que posee la bacteria (descarboxilasas, ureasas, peroxidases, entre otras).
- Los productos metabólicos producidos por las bacterias (ácido fórmico, succínico, butírico, entre otros).
- La capacidad para metabolizar azúcares por oxidación o fermentación.
- La capacidad de reducir ciertos iones (ferroso a férrico).
- La capacidad de movilidad por la presencia de flagelos.

- La producción o no de hemolisinas.
- El requerimiento o no de ciertos factores especiales para el crecimiento bacteriano (vitamina K, isovitalex, factor V y/o X, entre otros).
- La producción o no de algunas toxinas con capacidad virulenta.

Pruebas de tolerancia

Se refiere a la capacidad que pueda tener la bacteria para crecer a distintas temperaturas, presión atmósfera, pH, sales presentes en el medio, antibióticos, entre otras.

Existen métodos que utilizando los fundamentos del diagnóstico convencional se han diseñado para proporcionar resultados rápidos, basados en sistemas de lecturas automatizadas a través de softwares específicos.

Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

El método utilizado con mayor frecuencia para evaluar la sensibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos es el denominado prueba de difusión del disco. Esta técnica fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966, de allí que dicho método también se le conozca con el nombre de “prueba de Kirby-Bauer”. Es un método sencillo y fácil de realizar en los laboratorios de rutina que sólo brinda información cualitativa o semicuantitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico determinado. Sin embargo, los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia (Velasco, 2008).

Aproximación teórica sobre el diagnóstico presuntivo de infecciones a través de la coloración de Gram

La tinción o coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias sobre todo en muestras clínicas. Debe su nombre al bacteriólogo danés Christian Gram, que desarrolló la técnica en 1884. Se utiliza tanto para referirse a la morfología celular bacteriana como para realizar una aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose bacteria Gram positiva aquella que se visualiza de color morada, mientras que las que se visualizan de color rosa, rojo o grosella se les conoce como bacterias Gram negativas (Vizcaya y col., 1999).

Fundamento de la coloración de Gram

Las bacterias Gram positivas presentan una gruesa capa de peptidoglicano, y las Gram negativas con una delgada capa de peptidoglicano, a la que se le superpone una capa de lipopolisacárido-lipoproteína, denominada membrana externa. La presencia de esta membrana, marca la diferencia entre las bacterias Gram negativas y las Gram positivas carentes de dicha estructura (Figura 1) (Santiago, 2003).

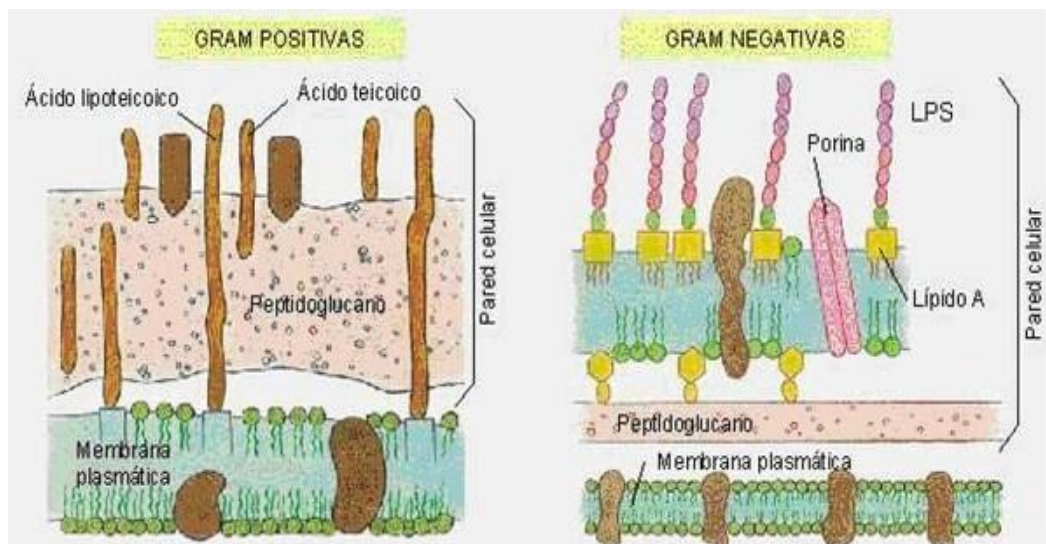


Figura 1. Diferencias en la Estructura de la Pared Celular entre Microorganismos grampositivos y gramnegativos. Tomada y modificada de Tortora, Funke y Case, (2007).

Las células Gram positivas poseen una gruesa paredes de peptidoglucano y poca cantidad de lípidos. El alcohol acetona (decolorante) deshidrata la pared celular y cierra los poros, alterando y afectando el pequeño espacio entre las moléculas. El complejo cristal violeta-yodo queda atrapado en el interior de la bacteria, tiñendo a las Gram positivas de color purpura (Velasco, 2008). Las bacterias Gram negativas tienen espacios en la estructura de su pared celular y el alcohol acetona es un solvente de lípidos que actúa sobre la membrana externa de la pared celular y la delgada capa de peptidoglucano no es capaz de retener el complejo cristal violeta-yodo lo cual obliga a las células Gram negativas a decolorarse, necesitando entonces la adición de la safranina o la fuscina como colorante de contraste para colorearse de rosado (Figura 2) (Castillo, 2007).

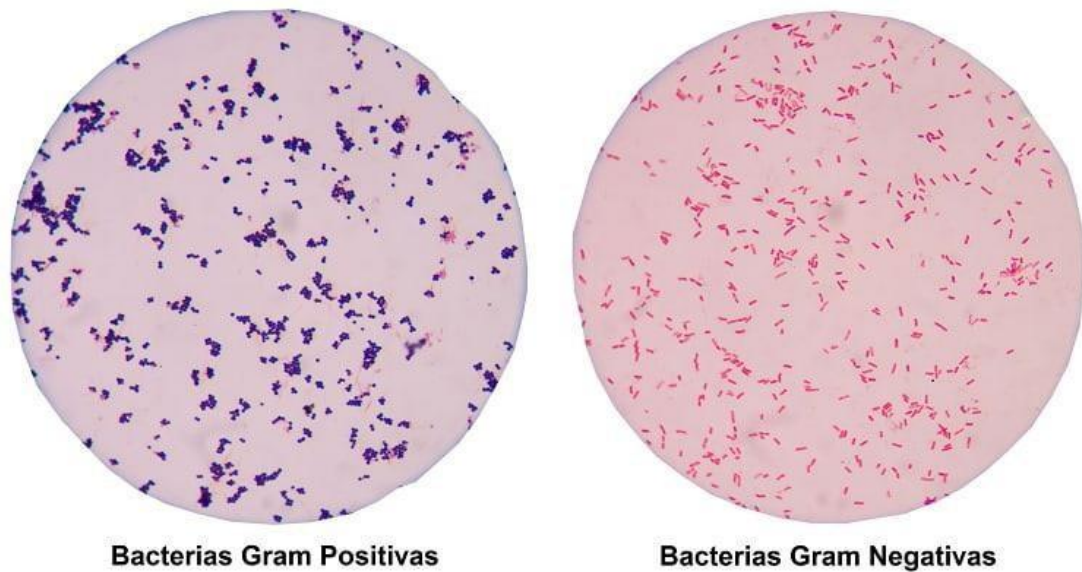


Figura 2. Tinción de Gram positivas y Gram negativas. Tomada y modificada de Tortora, Funke y Case, (2007).

Técnica de la coloración de Gram

Castellanos (1998), describe la técnica de la siguiente forma: se procede a elaborar un frotis y fijarlo al calor. Coloque la lámina que contiene el extendido sobre un soporte adecuado para mantenerlo en posición horizontal, procede entonces a:

1. Cubrir la lámina con Cristal de Violeta. Dejar actuar durante un minuto (este es el colorante primario que se une a la pared celular bacteriana).
2. Lavar con agua corriente.
3. Cubrir la lámina con Lugol. Dejar actuar durante 1 minuto. (actúa como mordiente para la unión del colorante).
4. Lavar con agua corriente.
5. Sobre la lámina, deje correr el decolorante orgánico (alcohol-acetona) hasta que la solución no salga teñida con el colorante violeta, si lo prefiere puede mantener la lámina sujeta entre el dedo pulgar e índice y colocarla

de manera que se obtenga un ángulo de 45°. Por lo genera el tiempo requerido para la decoloración no sobrepasa los 10 a 20 segundos.

6. Lavar con agua corriente.
7. Cubrir el frotis con una solución de Safranina (colorante de contraste) Dejar actuar por 30 segundos.
8. Lavar con agua corriente.
9. Colocar la lámina en posición vertical para escurrir el exceso de agua y permitir que se seque espontáneamente al aire.
10. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre la preparación y observar al microscopio y observar con el objetivo de 100 x.

La técnica utilizada en la mayoría de los laboratorios y estudios es la de la orina total sin centrifugar, en la cual se considera como criterio de positividad el hallazgo de una o más bacterias por campo de inmersión, lo cual se ha correlacionado con urocultivos con más de 10^5 UFC/mL. La sensibilidad y especificidad de esta prueba varían del 65% al 94%, y del 75% al 98%, respectivamente (Cardona y cols., 2008; López y cols., 2005). Por su lado, Villarroel (2008), demostró que la tinción de Gram para el diagnóstico de bacteriuria tiene una sensibilidad y especificidad del 93% y 98%, respectivamente.

La principal ventaja de realizar el Gram de orina no centrifugada como parte de la rutina bacteriológica de cultivos de orina, es el diagnóstico presuntivo rápido de infección urinaria y como guía para el tratamiento inicial basado en la forma y propiedades de la tinción del probable agente etiológico. Igualmente, ofrece la ventaja de cultivar el microorganismo en el medio más apropiado, tanto para su desarrollo, como para su caracterización macroscópica (aspecto de la colonia, fermentación de lactosa, tipo de hemólisis, etc.), por lo que posibilita orientar con mayor certeza el esquema inicial de identificación (Lopardo, 2013).

Además, la tinción de Gram es un método rápido, económico, sensible y específico para detectar bacteriuria. Se recomienda realizarlo como respaldo

frente a discordancias o hallazgos especiales más que como *screening*. La observación de bacterias en la coloración de Gram y urocultivo negativo deben hacer sospechar la posible presencia de bacterias anaerobias, si además el paciente presenta alguna anomalía anatómica del tracto urinario (López y Campuzano, 2013).

La tinción de Gram se convierte en una herramienta importantísima para el diagnóstico presuntivo y definitivo del agente infeccioso: Esta tinción constituye, por lo tanto, un apoyo indiscutible contra las enfermedades infecciosas y aumenta su valor en lo relativo a instaurar una terapia rápida permitiendo la selección de los antibióticos apropiados. Es de gran utilidad en el diagnóstico etiológico; sin embargo, la sensibilidad de esta técnica es variable según el tipo de muestra y la carga bacteriana presente en ella. La concentración de la muestra, como un paso previo a su tinción mejora el rendimiento, por lo que es recomendable su uso de rutina (Díaz, 2002).

www.bdigital.ula.ve

Definición Operacional de Términos

Morfotipos

Una morfoespecie o morfotipo se refiere a un grupo de organismos de cualquier taxón con características morfológicas comunes, que pueden ser de una misma especie o de diferentes especies. Los organismos tienen una apariencia (morfología) y unas medidas (morfometría).

Urocultivo

El urocultivo es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección. Está basada en la presencia de un número significativo de bacterias.

Identificación Bacteriana

Es el ejercicio práctico en el que se ejercen las pruebas de identificación bacteriana. Cada género, inclusive especie, tiene diferentes reacciones cuando se les enfrentan diferentes reactivos, esto se hace a partir de un cultivo puro, ya la bacteria aislada, con estas pruebas podremos decir casi con exactitud de que género y qué especies que esta bacteria. A estas pruebas se les ha llamado como primarias, secundarias y complementarias.

Piuria estéril

Se define como la presencia de más de cinco o más de 10 leucocitos por 400X en la orina, en ausencia de bacterias en el urocultivo. Se puede presentar en un gran número de enfermedades, ya sean sistémicas o localizadas en el tracto urinario, y es también frecuente en pacientes con sonda vesical.

www.bdigital.ula.ve

Inflamación

Es un término general que hace referencia a la alteración anormal de los tejidos u órganos causada por el daño o la destrucción del tejido. La inflamación tiene componentes inmunitarios y no inmunitarios, en cada caso la defensa puede ser celular o no celular (humoral). El sufijo “-itis” se usa para indicar inflamación; cuando se lo asocia a un sitio anatómico, describe una enfermedad. Ejemplo. La Apendicitis es un proceso inflamatorio que afecta el apéndice, mientras la Hepatitis es la inflamación del hígado y la Endocarditis es la inflamación del endocardio. La inmunidad innata y la inmunidad adaptativa son los dos brazos principales de la respuesta inmunitaria (Koneman y cols., 2008).

Operacionalización de Variables

Arias (2012), expresa que una variable en característica o casualidad, pueden sufrir cambios y es por ello el motivo de análisis, medición manipulación o control de una investigación, para llevar a cabo la presente investigación se definieron las variables según su función, en la relación causal de la siguiente manera.

- **Variables independientes:** son las causas que generan y explican los cambios en la variable dependiente. (Arias, 2012). En el caso particular el objeto de estudio se define como variable independiente: La tinción de Gram (Tabla 1).
- **Variables dependientes:** Son aquellas que se modifican por acción la variable independiente. Constituyen los efectos o consecuencias que se miden y que dan origen a la investigación (Arias, 2012). En la actual investigación se define como variable dependiente: El Urocultivo (Tabla 2).

Tabla 1. Operacionalización de la Variable independiente

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición conceptual ¿Qué es?
Tinción de Gram.	Independiente	Técnica de coloración empleada para la diferenciación morfológica y afinidad tintorial bacteriana.
4. Dimensión operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
Presencia de Cocos Gram positivos o negativos, Bacilos Gram negativos o positivos y leucocitos polimorfonucleares	Diagnóstico positivo de infección Diagnóstico negativo de infección	Presencia o ausencia de morfotipos bacterianos y leucocitos polimorfonucleares

Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Tabla 2. Operacionalización de la Variable Dependiente

1.Variable	2.Tipo de Variable	3.Definición conceptual ¿Qué es?
Urocultivo	Dependiente	El urocultivo es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección.
4.Dimensión operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6. Indicador
Unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas en los medios de cultivos inoculados	Diagnóstico positivo de infección del tracto urinario diagnóstico negativo de infección del tracto urinario	Presencia o ausencia de colonias bacterianas

Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2010), refirió que el tipo de investigación tiene relación con la interrogante de estudio en la cual se resalta lo que se quiere saber. Pues, esto marca el logro general que se desea conseguir durante el proceso e identifica el tipo de investigación. En este mismo orden de ideas, Hurtado menciona que la investigación analítica “pretende encontrar pautas de relación internas en un evento para llegar a un conocimiento más profundo de éste”.

En consecuencia, el verbo a utilizar en el objetivo tiene que implicar un logro. Específicamente, durante esta investigación se quiso saber si había relación entre los elementos del evento en estudio. Es decir, se analizó de qué manera se relacionaron los morfotipos bacterianos y leucocitos polimorfonucleares en la coloración de Gram, con el aislamiento e identificación bacteriana en urocultivos, en los pacientes que asistieron al Laboratorio Clínico y de Diagnostico Andrológico Biolabs en el contexto determinado. Por lo tanto, esta investigación fue de tipo analítica.

Diseño de la Investigación

Hurtado (2010), describió que el diseño de investigación se refiere a las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En tal sentido, esta investigación adopta un diseño de campo, que según Arias (2012), los diseños de campo “consisten en la recolección de datos directamente de la realidad donde ocurren los hechos, sin manipular o controlar variable alguna”.

Por consiguiente, en este estudio las muestras biológicas se obtuvieron de los diferentes pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs de la Ciudad de Valera, Estado Trujillo.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Para Tamayo y Tamayo (2010), la población “es la totalidad del fenómeno a estudiar en donde las unidades de población poseen una característica común, la cual se estudia y da origen a los datos de la investigación”. De esta forma, la población de estudio estuvo representado por los pacientes adultos que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs de la Ciudad de Valera, Estado Trujillo, durante el mes de marzo 2019.

Selección del Tamaño de la Muestra

Al respecto, Tamayo y Tamayo (2010), manifiesta que “la muestra descansa en el principio de que las partes representan al todo y por tal refleja las características que definen la población de la cual fue extraída, lo que indica que es representativa”. De la población enunciada por ser finita se trabajó con el total de poblacional.

La “n” muestral estuvo representada por 150 urocultivos recolectados de los pacientes adultos que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs de la Ciudad de Valera. Durante el mes de marzo de 2019.

Sistema de Variables

Las variables que guardarán relación con el propósito de esta investigación serán las siguientes: variable Independiente (VI): tinción de Gram, variable

dependiente (VD): Urocultivos. Estas variables corresponden a los núcleos semánticos del problema de investigación y a la vez, permitirán la verificación del fenómeno de estudio en la unidad de investigación.

Instrumento y Recolección de Datos

Según Palella y Martins (2010) y Pérez (2009), un instrumento permite recolectar datos para medirlos, posteriormente, a través de los modelos matemáticos. Por eso, los insumos que se utilizaron para la realización del sistema de recolección de datos fueron: los objetivos, las bases teóricas y la operacionalización de los eventos. En el presente estudio la técnica utilizada para recabar información en cuanto a la variable fue la encuesta y como instrumento se diseñó un cuestionario, el cual se aplicó a una población bastante homogénea, con niveles similares y con una problemática semejante. Para llevar a cabo esta investigación se requirió del diseño de un instrumento de recolección de datos en la figura de cuestionario estructurado, el cual consiste en un conjunto de preguntas respecto a una o más variables a medir, con el fin de recoger los datos clínicos y epidemiológicos considerados en los objetivos.

Procedimiento de la investigación

Recolección de las muestras

Las muestras fueron recolectadas por los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs con el fin de realizarse el urocultivo, previa indicación por escrito sobre la técnica de la toma de la muestra de orina por micción espontánea, la cual se prescribió realizar de la siguiente manera:

Se recomienda que la persona realice un aseo genital con agua y jabón, con especial cuidado en el área del meato uretral y en el caso de las mujeres pasar la esponja o gasa de adelante hacia atrás, seguido por un enjuague con agua. No se deben utilizar soluciones desinfectantes para realizar el aseo genital ya que estas pueden, si se ponen en contacto con la orina, esterilizarla y dar un resultado falso negativo. La paciente debe proceder a separar los labios genitales, descartar la primera parte de la micción en el inodoro, y recolectar de la mitad de la micción, directamente en un recipiente estéril. En los hombres es suficiente con asear el meato uretral y retraer el prepucio para minimizarla contaminación. Nunca se debe recoger la muestra de un «pato» u «orinal». Debe recogerse en un recipiente estéril, la primera orina de la mañana y enviarse rápidamente al laboratorio, manteniendo cadena de frío para su conservación.

Examen directo. Tinción de Gram

Una vez recibidas las muestras, se procedió a trasvasar 10 mL de orina a tubos de vidrio para centrifugar durante 10 minutos y separar los elementos formes presentes en la orina. Luego se descartó el sobrenadante y se mezcló el sedimento que quedó en el fondo del tubo. Posteriormente, se colocó una gota del sedimento en un portaobjeto, la cual se extendió y se fijó al calor,

flameando tres veces sobre el mechero y se continuó con la técnica de tinción de Gram que se esquematiza en la Figura 3.

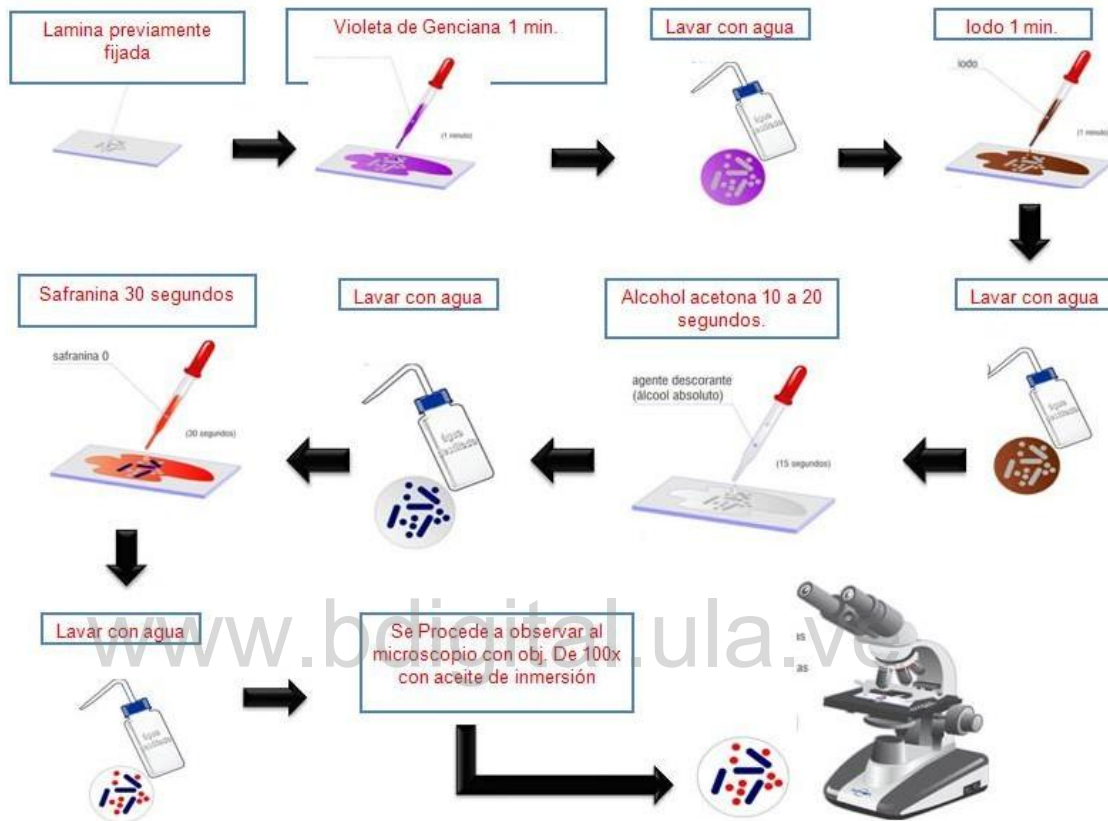


Figura 3. Esquema de la técnica de la Tinción de Gram, Tomada y modificada de Castellanos, (1998).

Cultivos primarios

En el laboratorio las muestras fueron sembradas por el método de asa calibrada (Figura 4) descrito para el procesamiento de urocultivos en los medios de cultivo agar sangre 5 %, agar Levine y agar MacConkey para el aislamiento de bacterias causantes de ITU, incubado de 18 a 24 horas, en microaerofilia y aerobiosis, respectivamente.

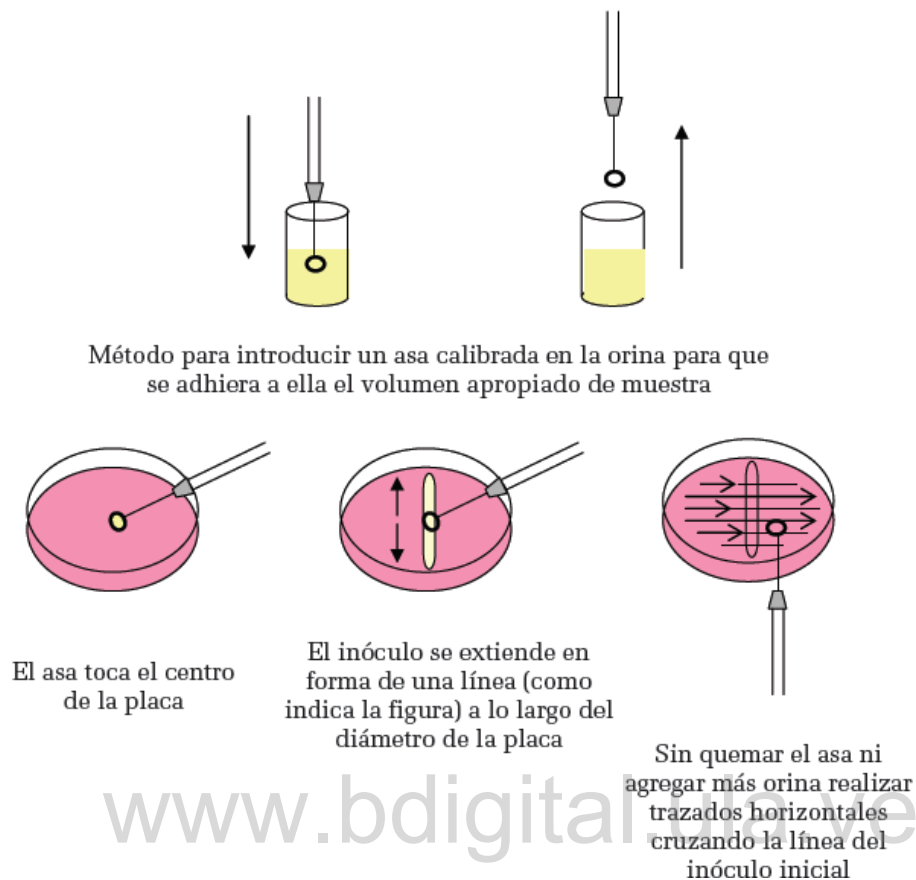


Figura 4. Método de asa calibrada para Urocultivos. Tomada y modificada de Velasco (2008).

Pruebas de identificación Bacteriana

Es el ejercicio práctico en el que se ejercen las pruebas de identificación bacteriana. Cada género, inclusive especie, tiene diferentes reacciones cuando se les enfrentan diferentes sustratos esto se hace a partir de un cultivo puro, ya la bacteria aislada, con estas pruebas podremos decir casi con exactitud de que género y qué especies de la bacteria. Para la identificación de las bacterias en el laboratorio es importante conocer sus características morfológicas, la reacción a la tinción de Gram, agrupación, propiedades,

morfología colonial, reacciones metabólicas como producción de enzimas y reacciones de óxido-fermentación.

El esquema general del procedimiento de la investigación se representa en la Figura 5.

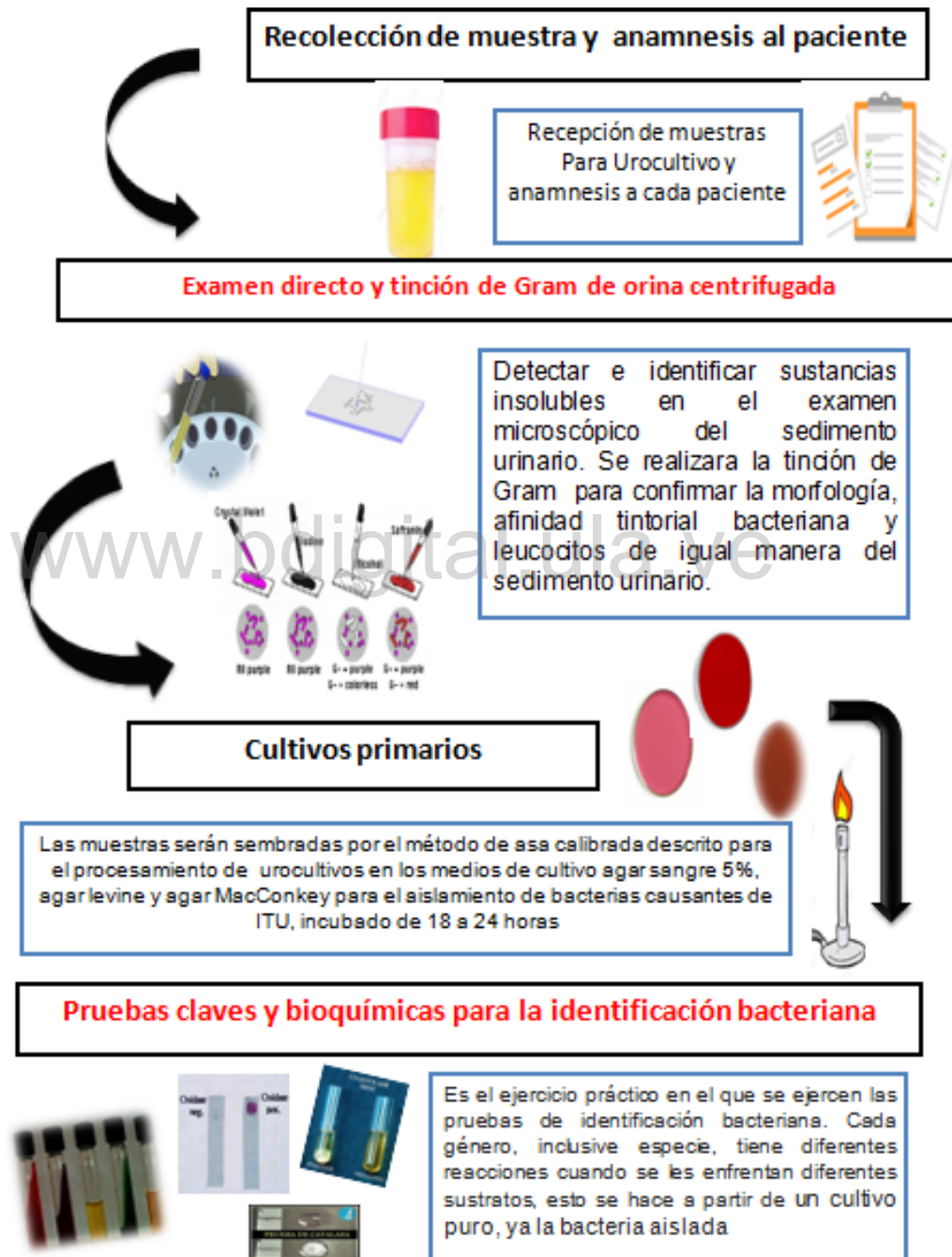


Figura 5. Esquema de procedimiento de la investigación. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Diseño de Análisis

Los resultados de esta investigación fueron analizados a través del enfoque cuantitativo, para Hernández, Fernández y Baptista (2010), el enfoque cuantitativo se dirige a recoger información objetivamente mensurable, también señala que las técnicas cuantitativas de obtención de información requieren de apoyo matemático y permiten la cuantificación del resultado.

Los resultados de la tinción de Gram y los urocultivos realizados a cada una de las muestras procesadas, se organizaron y tabularon en tablas en Excel para su análisis y tratamiento estadístico. En tal sentido, se creó una base de datos en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) V.20 para Windows. Los datos obtenidos fueron medidos numéricamente y se interpretaron mediante técnicas estadísticas descriptivas de frecuencia absoluta y porcentaje. Se realizó análisis de asociación de las variables con intervalo de confianza (IC) de 95% e interpretando el nivel de significancia estadística (α) menor a 0,05.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Se procesaron los datos y muestras de 150 pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Biolabs. De acuerdo la distribución por género, se obtuvo que el 78,7% (118) eran femenino, mientras que el masculino solo obtuvo una representación del 21,3% (32) del total de los pacientes, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,469$) (Tabla 3). En la Figura 6 se muestra gráficamente la distribución de la muestra de estudio de acuerdo al género.

Tabla 3. Distribución del género de los pacientes

Género	N	%	p. valor
Femenino	118	78,7	0,46961
Masculino	32	21,3	
Total	150	100,0	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Respecto a la edad, se obtuvo que en promedio los pacientes tenían 36 años de edad, tanto para el grupo femenino como para el grupo masculino, con prevalencia entre 18 y 54 años según la desviación estándar. Se pudo notar que la edad del grupo masculino fue menor que la del género femenino,

En donde la mayor edad fue de 77 y 87 años, respectivamente. En cuanto al intervalo de confianza se estima que el mayor porcentaje de pacientes tenían entre 29 y 44 años de edad. La diferencia de edades entre ambos grupos no fue estadísticamente significativa.

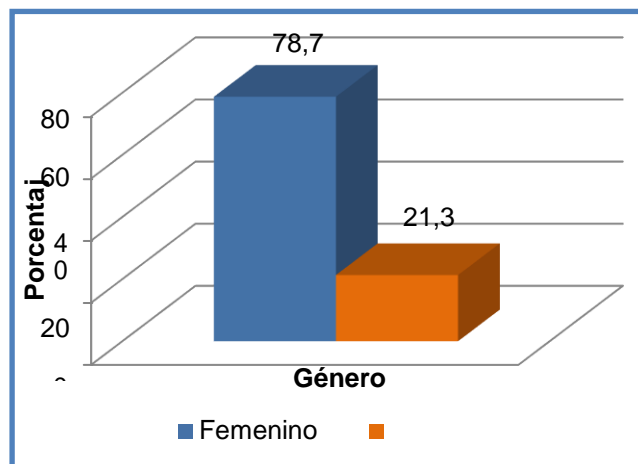


Figura 6: Distribución del sexo de los pacientes.

En la Figura 7 se muestra gráficamente la distribución de los pacientes estudiados de acuerdo a la edad y el género. Se pudo notar que el grupo masculino era un poco más joven que el femenino, con edades promedio general de 29 y 36 años, respectivamente.

Tabla 4. Edad de los pacientes

GÉNERO	EDAD				p-valor
	Promedio	Mediana	IC 95 %		
	$\bar{X} \pm DE$	Mín - Máx			
Femenino	36 ± 18	18 – 87	30	33 – 40	0,544668
Masculino	36 ± 18	18 – 77	27	30 – 42	
Total	36 ± 49	18 – 87	29	29 – 44	

Se muestra el promedio \pm la desviación estándar (DE) de la edad por sexo, asimismo se identifican los valores máximos y mínimos para cada grupo de estudio, con intervalos de confianza (IC) del 95%. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$.

Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

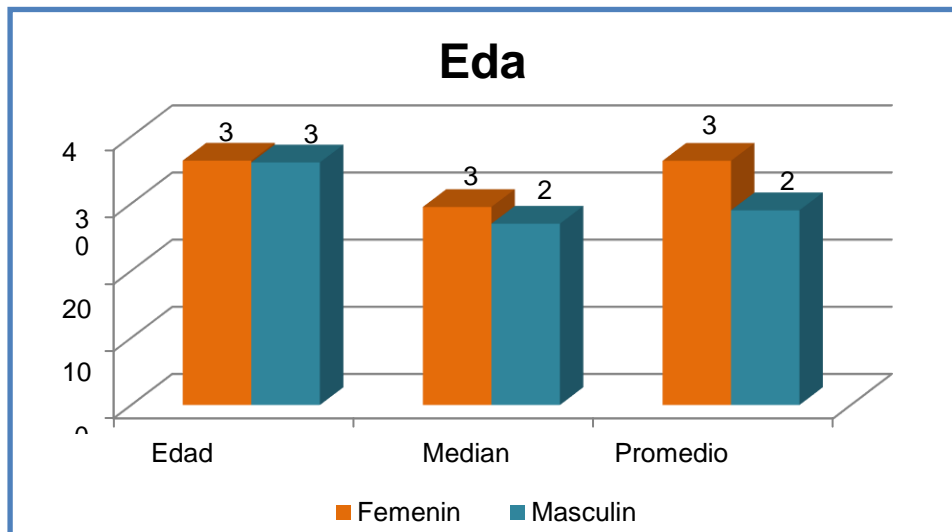


Figura 7: Edad de los pacientes.

En la Tabla 5, se observó que 110 (73,3%) de los pacientes, son provenientes de la comunidad de los cuales 89 (59,3%) son del género femenino y 21 (14%) son masculinos y 40 (26,7%) proceden de servicios hospitalarios de los cuales 29 (19,3%) son del género femenino y 11 (14%) son del masculino. La relación no fue estadísticamente significativa ($p=0,542$). En la Figura 8 se representa gráficamente la distribución de los pacientes de acuerdo a la procedencia y el sexo.

Tabla 5. Procedencia, hospitalaria o de la comunidad de los pacientes

GÉNERO	Femenino		Masculino		Total		p Valor
	N	%	N	%	N	%	
SERVICIO							
Hospitalario	29	19,3	11	7,3	40	26,7	0,54207
Comunitario	89	59,3	21	14,0	110	73,3	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

En la tabla 6, se observa que 87(58%) de los pacientes, no presentan diagnóstico, los factores subyacentes más relevantes son el embarazo con 34 (22,7%), 10 (6,7%) diabetes, 9 (6%) cirugía, 4 (2,7%) hipertensión y 3 (2%)

daño renal y deshidratación. En la Figura 9 se representa la distribución de los pacientes de acuerdo a los factores subyacentes según el diagnóstico predeterminado.

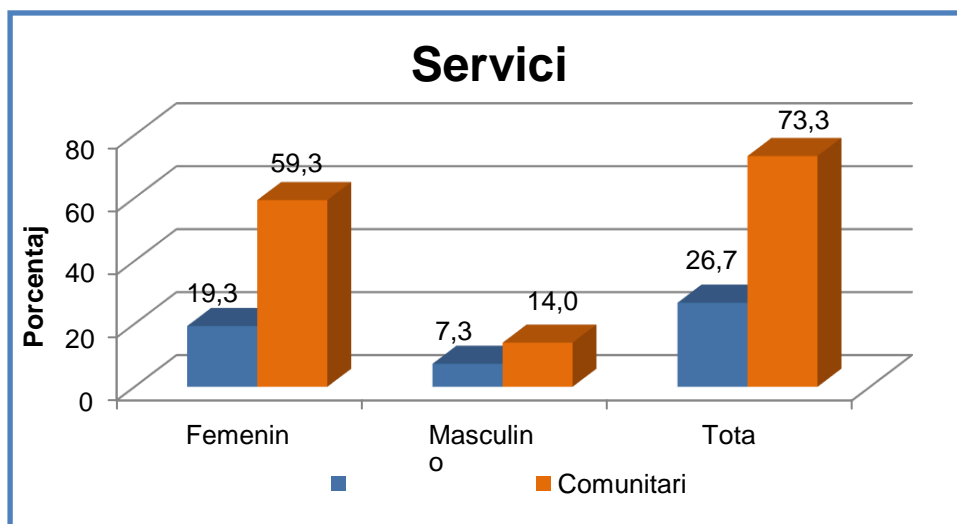


Figura 8: Procedencia, hospitalaria o de la comunidad de los pacientes

www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Factores subyacentes de los pacientes

F. Subyacente	N	%	p Valor
Embarazo	34	22,7	
Daño Renal	3	2,0	
Cirugía	9	6,0	0,46961
Diabetes	10	6,7	
Hipertensión	4	2,7	
Deshidratación	3	2,0	
Sin diagnostico	87	58,0	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. F= factor. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Asimismo, en la Tabla 7, se observa que 35 (23,3%) de los pacientes tomaron tratamiento, los 115 restantes (76,7%) no recibieron antibióticoterapia.

En la Figura 9 se representa la distribución de los pacientes en relación a los que tomaron algún tipo de antibiótico para la infección urinaria y los que no recibieron terapia antimicrobiana.

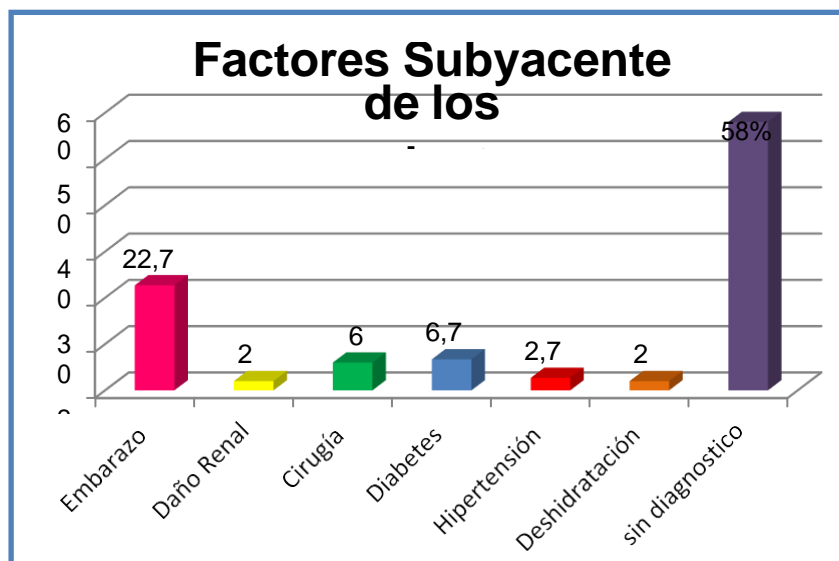


Figura 9: Factores Subyacentes de los pacientes.

Tabla 7. Pacientes bajo tratamiento

Tratamiento	N	%	p Valor
Si	35	23,3	0,54207
No	115	76,7	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Ahora bien, en la realización de examen directo al microscopio del sedimento urinario se observó que el 43,3% de los pacientes tenían de 0-2 leucocitos por campo (XC), el 17,3% de 2-4 XC, el 4% presentaron resultados de 4- 6 XC y 6-8 XC, 3,3% de los pacientes entre 10- 12 XC, 2,7% se contó de 35-40 XC y el 15,4% tenían más de 100 leucocitos XC (Tabla 8).

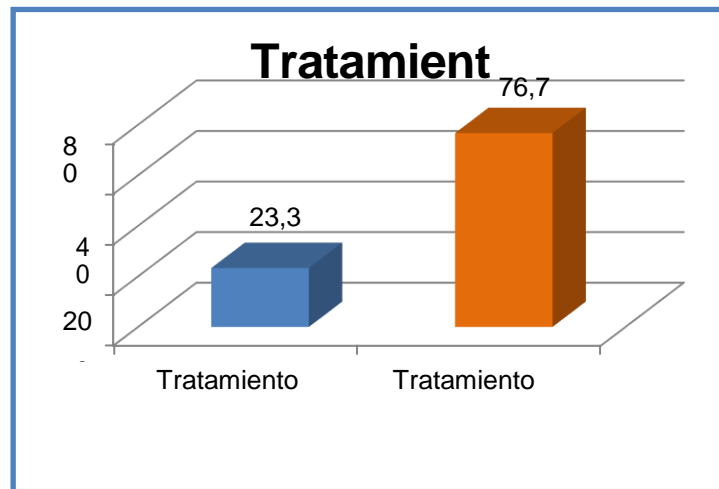


Figura 10. Pacientes bajo tratamiento

Tabla 8. Contaje de leucocitos en examen directo de sedimento urinario

Promedio de Leucocitos	N	%	p Valor
0-2 XC	65	43,3	0,55376
2-4 XC	26	17,3	
4-6 XC	6	4,0	
6-8 XC	6	4,0	
8-10 XC	3	2,0	
10-12 XC	5	3,3	
12-14 XC	1	0,7	
15-18 XC	2	1,3	
18-20 XC	2	1,3	
20-25 XC	2	1,3	
25-30 XC	2	1,3	
30-35 XC	3	2,0	
35-40 XC	4	2,7	
Más 100 XC	23	15,4	
Total	150	100,0	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020

Igualmente, en la Figura 11 se muestra gráficamente la distribución de los pacientes de acuerdo a la cantidad de leucocitos reportados en el examen microscópico del sedimento urinario luego de realizar un promedio de los campos observados.

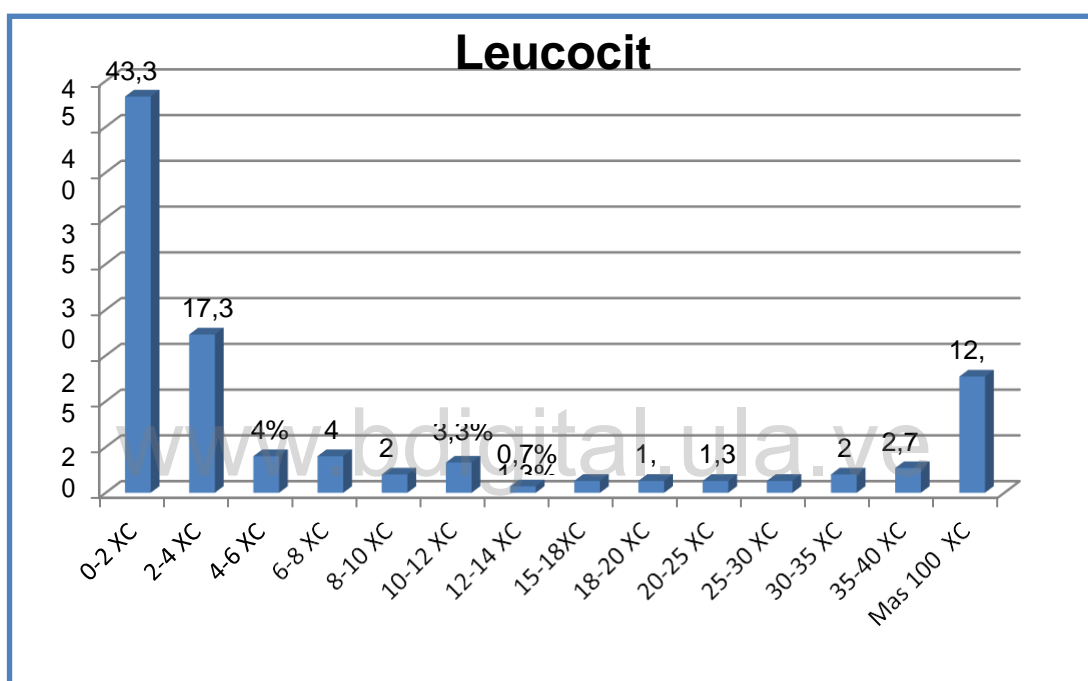


Figura 11: Contaje de leucocitos en examen directo de sedimento urinario

Al realizar la coloración de Gram e identificar las estructuras morfológicas bacterianas según las características tintoriales, se pudo observar que en el 100% de las muestras se observó morfología bacteriana, distribuida de la siguiente manera: 3,3% de los extendidos de muestra de orina se apreciaron la presencia de ambos tipos de bacterias, tanto grampositivas como gramnegativas, mientras que en el 56,0% de las muestras de los pacientes tenían bacilos Gram negativos y en el 40,7% de los extendidos se observaron cocos grampositivos (Tabla 9). Cabe resaltar que en todos los sedimentos se

observó morfología bacteriana. En la Figura 12 se muestra gráficamente la distribución de los microorganismos hallados en las muestras de orina analizadas mediante la técnica de tinción de Gram. Se puede apreciar que más de la mitad de los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs, presentaba infección del tracto urinario por bacilos Gram negativos, a diferencia de los pacientes que presentaron infección por cocos Gram positivos.

Tabla 9. Identificación de la morfología bacteriana según la coloración de Gram en las muestras de orina analizadas

Morfología bacteriana	SI		p Valor
	N	%	
Bacilos Gram Negativos (BGN)	89	56,0	0,43685
Cocos Gram Positivos (CGP)	66	40,7	
Ambos morfotipos	5	3,33	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

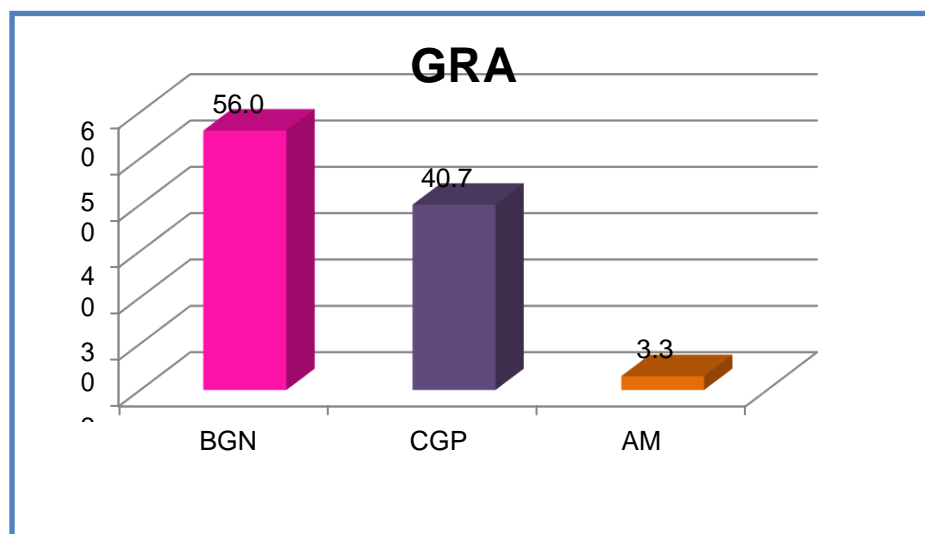


Figura 12: Microorganismos identificados en las muestras de orina, analizadas mediante la tinción de Gram. BGN = bacilos gramnegativos y CGP = cocos grampositivos. AM= ambos morfotipos.

En la Tabla 10, se presentan los valores de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) cuantificados en la coloración de Gram según el criterio de conteo y reporte estandarizado por el laboratorio, el cual establece que todos los conteos de estas células corresponden a promedios efectuados por la cantidad de campos observados, siendo los más relevantes 65 (43,3%) 0-2 PMN por campo (XC), incluidos aquellos en los cuales no se observaron PMN. El 23 (15,4%) con más de 100 XC; 26 (17,3%) presentaron de 2-4 XC; 6 (4,0%) tenían un valor de 4-6 XC y 6-8 XC; 3 (2,0%) entre 8-10 XC; 5 (3,3%) de 10-12 XC; 2 (1,3%), el menor grupo se contabilizó de 12-14 XC con 0,7%; cuatro grupos presentaron un porcentaje de 1,3% en el conteo de PMN (15-18; 18-20; 20-25; 25-30XC); 3 (2,0%) presentó un valor 30-35 XC y 4 (2,7%) sus valores fueron 35-40 XC. En la Figura 13 se muestra la distribución del recuento de PMN mediante la técnica de coloración de Gram.

En la Tabla 11, se presentan los valores obtenidos en relación con el crecimiento bacteriano obtenido de las muestras analizadas de los 150 pacientes, en donde se observó que en el 53,3% de las muestras hubo crecimiento bacteriano y en el 46,7% el cultivo fue considerado negativo luego de 48 horas de incubación (sin crecimiento de bacterias).

En la Figura 14 se muestra la distribución de la población de acuerdo con el resultado obtenido del urocultivo realizado a las muestras de estudio.

Tabla 10. Leucocitos polimorfonucleares en el Gram

Promedio de PMN	N	%	p valor
0-2 XC	65	43,3	
2-4 XC	26	17,3	
4-6 XC	6	4,0	
6-8 XC	6	4,0	
8-10 XC	3	2,0	
10-12 XC	5	3,3	
12-14 XC	1	0,7	0,55376
15-18 XC	2	1,3	
18-20 XC	2	1,3	
20-25 XC	2	1,3	
25-30 XC	2	1,3	
30-35 XC	3	2,0	
35-40 XC	4	2,7	
Más 100 XC	23	15,4	
	150	100,0	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020

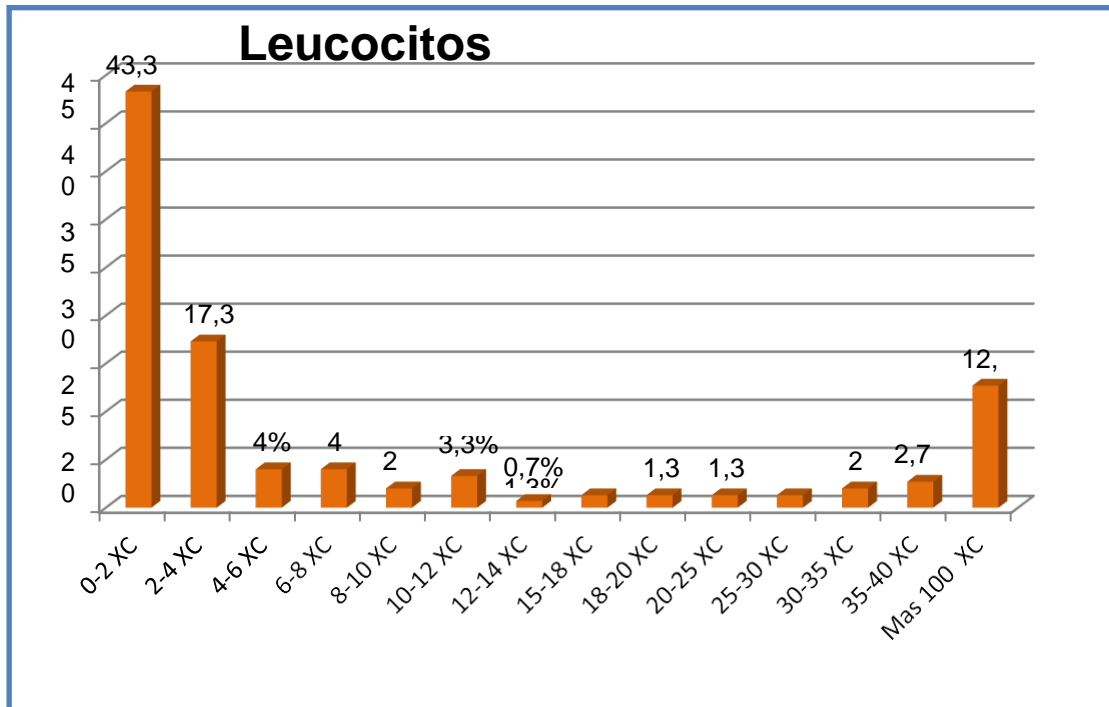


Figura 13: Contaje de Leucocitos PMN en el Gram

www.bdigital.ula.ve

Tabla 11. Cultivo de los pacientes

Cultivos	N	%
Positivos	80	53.3
Negativos	70	46.7

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Al analizar los casos de urocultivos positivos con la población de estudio, se demostró que de los 80 casos positivos, 67 (83,75%) correspondían al grupo femenino, mientras que solo 13 (16,25%) pertenecían al grupo masculino.

Según la procedencia se constató que 36,25% eran pacientes hospitalizados. Asimismo, el 23,75% de los casos positivos eran mujeres embarazadas, además, es de resaltar que de los 10 pacientes diabéticos 8

presentaron ITU. Igualmente, 22 (27,5%) de los 35 pacientes que tomaban antibiótico resultaron con urocultivos positivos (Tabla 12).

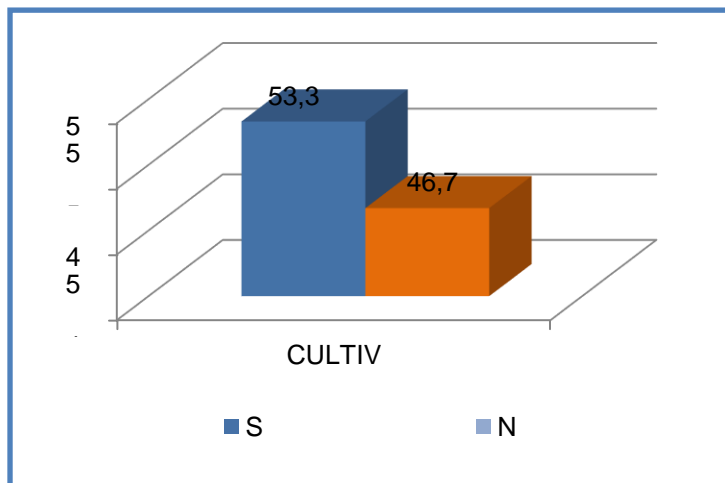


Figura 14. Resultados del urocultivo realizado a las muestras de estudio

Tabla 12. Características de los pacientes con urocultivo positivo

Característica	N	%	
Género	Femenino	67	83,75
	Masculino	13	16,25
Procedencia	Comunitaria	51	63,75
	Hospitalaria	29	36,25
	Sin Dx	39	48,75
Factores subyacentes	Embarazada	19	23,75
	Diabetes	8	10
	Otro	14	17,5
Tratamiento	Si	22	27,5
	No	58	72,5

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). Dx: Diagnóstico.

Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

Relacionando el conteaje de PMN, mediante coloración de Gram, de cada una de las muestras analizadas con sus respectivos urocultivos se encontró

que el 27,5% de cultivos positivos tuvo un conteo de PMN mayor a 100 por campo. Sin embargo, el 20% de los cultivos positivos solo tenían un recuento entre 0 y 2 PMN por campo y 17,5% un conteo de 2 a 4 PMN XC. Cabe señalar que el 70% de los cultivos negativos tuvo un conteo de PMN de 0-2 XC y solo el 1,42% de los cultivos negativos presentaron un recuento mayor a 100 PMN XC (Tabla 13). De acuerdo al valor de chi (X^2) = 48,72 obtenido se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000004$) en la proporción de cultivos bacterianos positivos en relación al conteo de PMN.

Tabla 13. Correlación del conteo de PMN con urocultivos de las muestras de orina

Promedio de Leucocitos	Cultivo Positivo	Cultivo Negativo	X^2	p valor
0-2 XC	16 (20%)	49 (70%)		
2-4 XC	14 (17,5%)	12 (17,14)		
4-6 XC	4 (5%)	2 (2,85%)		
6-8 XC	4 (5%)	2 (2,85%)		
8-10 XC	1 (1,25%)	2 (2,85%)		
10-12 XC	4 (5%)	1 (1,42%)		
12-14 XC	1 (1,25)	0		
15-18 XC	2 (2,5%)	0	48,72	4 e-6
18-20 XC	2 (2,5%)	0		
20-25 XC	2 (2,5%)	0		
25-30 XC	2 (2,5%)	0		
30-35 XC	2 (2,5%)	1 (1,42%)		
35-40 XC	4 (5%)	0		
Más 100 XC	22 (27,5%)	1 (1,42%)		
	80	70		

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La correlación de las variables determino mediante la prueba de chi-cuadrado (X^2). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020.

En la Figura 15 se muestra la curva de regresión lineal entre el contejo de PMN con los resultados de los urocultivos realizados a las muestras de orina, en la cual se pudo constatar que existen correlación positiva directa, es decir, a medida que aumenta el contejo de PMN en las muestras de orina aumenta la probabilidad de presentar un urocultivo positivo.

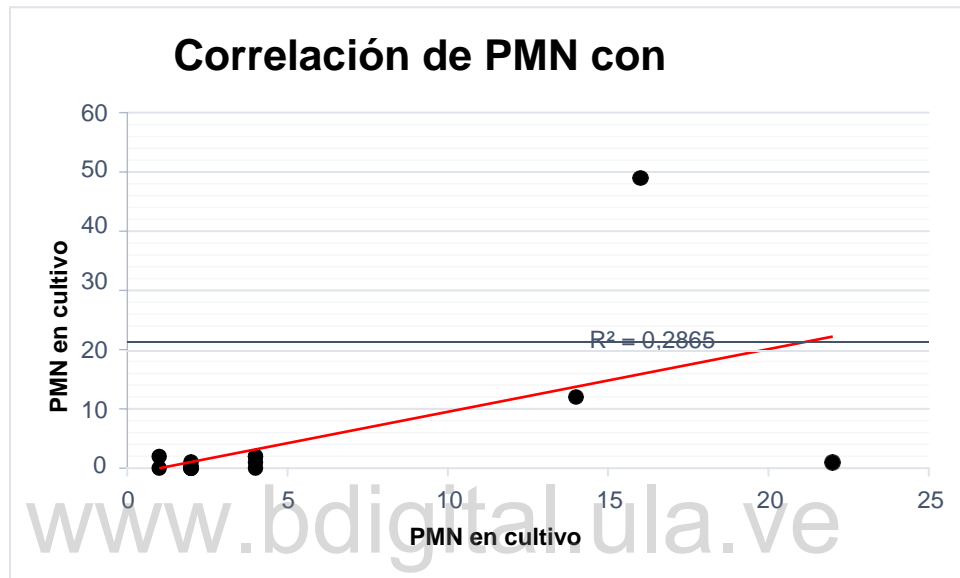


Figura 15. Correlación del contejo de PMN con los resultados de urocultivos. Se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson (R^2) de 0,2865.

De los cultivos positivos, se realizó el aislamiento e identificación de los microorganismos crecidos (Tabla 14). Se obtuvo que en el 80% hubo crecimiento de la bacteria uropatógena *Escherichia coli*, con un 75% con contejos mayor a 100.000 UFC/mL de orina, según los criterios de Kass, y el 5% con contejos entre 10.000- 100.000 UFC/mL de orina.

Asimismo, se observó que en el 7,5% de los cultivos positivos creció *Klebsiella pneumoniae* con un 6,3% de contejo mayor a 100.000 UFC/mL de orina y 1,3% entre 1000- 10.000 UFC/mL de orina.

Otro de los microorganismos aislados en los cultivos de las muestras de orina fue *Enterobacter* spp. con 3,8%, con un recuento mayor a 100.000 UFC/mL de orina. Por su parte, las bacterias Gram positivas que crecieron y

se aislaron de los urocultivos fueron *Staphylococcus* coagulasa negativa con un recuento mayor a 100.000 UFC/mL de orina en fueron 2,5% de los casos.

Igualmente, hubo desarrollo bacteriano de *Staphylococcus aureus* en el 2,5% de las muestras positivas con un contaje entre 1000- 10.000 UFC/mL de orina. Y al 1,3% se le cuantifico entre 1000 - 10.000 UFC/mL de orina de *Citrobacter freundii* y *Proteus mirabilis* (Figura 16).

Tabla 14. Identificación de los microorganismos aislados a partir de las muestras analizadas

Microorganismo Aislado	N	%	p Valor
<i>Escherichia coli</i>	64	80	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	7,5	
<i>Enterobacter</i> spp.	3	3,8	
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa	3	3,8	0,44944
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2,5	
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1,3	
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,3	

Se muestran las frecuencias absolutas (N) y los valores relativos (%). La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020

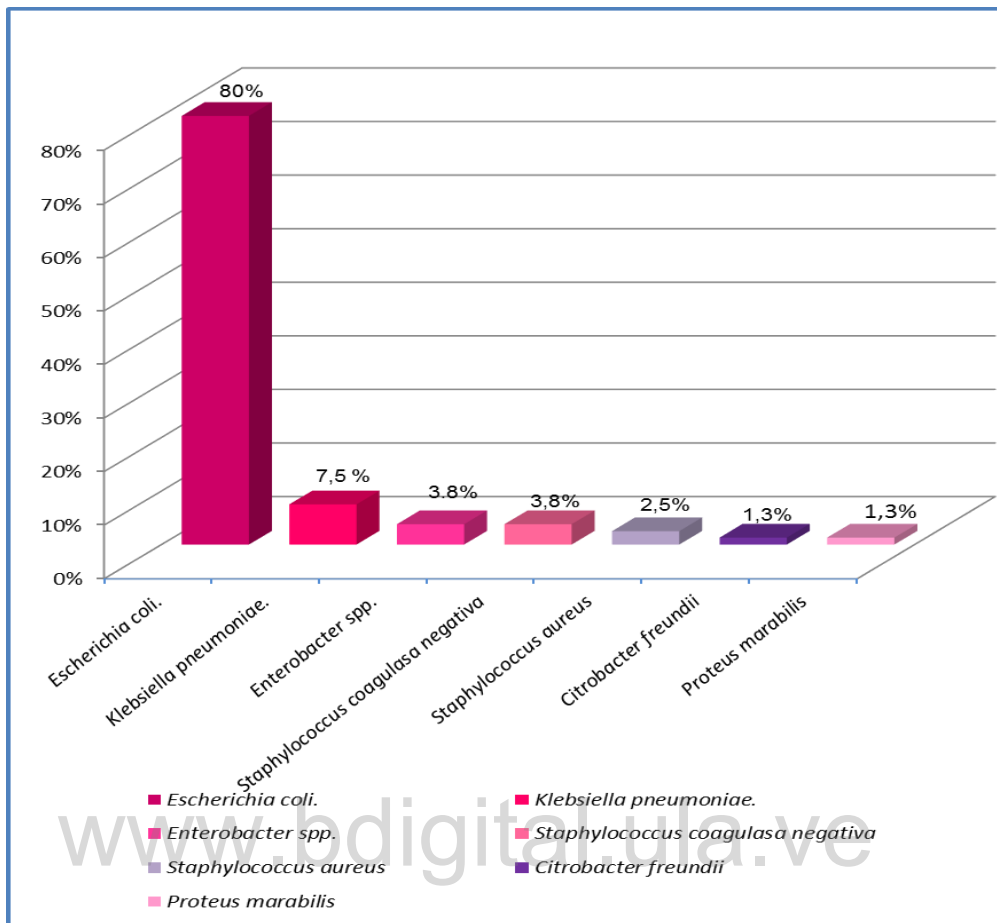


Figura 16: Distribución de los microorganismos aislados de las muestras de orina.

En la Tabla 15 se muestran los valores predictivos de las pruebas diagnósticas de ITU. En las cuales se compararon el conteo de PMN y coloración de Gram de orinas positivas y negativas de los resultados obtenidos en los urocultivos. Se observó que, partiendo de un punto de corte de recuento de PMN de ≥ 4 la sensibilidad, especificidad, VPN y VPP solo alcanzan un poco más del 50%. Además, la determinación de la presencia de bacterias en la muestra de orina a través del Gram, a partir de la cantidad de bacterias observadas (moderada o abundantes) la sensibilidad fue de 55,9 evidenciándose una especificidad de 44,6 para este tipo de muestra.

Tabla 15. Resultados inferenciales de las pruebas diagnóstico

Prueba Diagnóstica	S	E	VPP	VPN	Punto de corte
PMN en Gram	56,7	58,3	61,5	53,4	≥ 4 XC
Identificación morfológica por Gram	55,9	44,6	47,9	52,6	MODERADAS ABUNDANTES

S: sensibilidad, E: Especificidad, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, XC: por campo. Fuente: Cepeda y Grimaldos, 2020

www.bdigital.ula.ve

Discusiones

Varios estudios muestran al urocultivo como el método de referencia para el diagnóstico de una infección urinaria. Sin embargo, el tiempo que tarda este método en dar resultados se traduce en aumento de costos, lo cual conlleva a el uso de pruebas rápidas que permitan dar una atención inmediata al paciente y/o descartar el diagnóstico de una ITU, entre ellas tenemos al sedimento urinario, esterasa leucocitaria, nitritos y la coloración de Gram (Mujica, 2018).

Con el fin de estudiar la relación de los morfotipos bacterianos y leucocitos PMN observados mediante la coloración de Gram y el aislamiento e identificación de bacterias uropatógenas en urocultivos de muestras de orina de adultos, se analizaron 150 muestras de pacientes mayores de 18 años que acudieron al Laboratorio Clínico y de Diagnóstico Andrológico Biolabs. El 78,8% de las pacientes fueron del género femenino, de las cuales el 83,75% presentó un urocultivo positivo. Este resultado se correlaciona con los obtenidos por Aycachi (2019) y Mujica (2018), quienes reportaron prevalencia de ITU del género femenino en un 95,0% y 71,1%, respectivamente. Este elevado porcentaje de infección urinaria en las mujeres es debido a varios factores anatómicos y fisiológicos, así como la proximidad de la uretra y el recto (McLaughlin y Carson, 2004). En contraste, solo el 16,25% de los pacientes masculinos presentaron un cultivo positivo, los cuales son similares a los obtenidos por otros autores (Aycachi, 2019; Mujica, 2018).

De acuerdo a la edad, se demostró que en promedio los pacientes tenían 30 años. Lo que concuerda con los estudios de Aycachi (2019), quien encontró una prevalencia en adultos jóvenes entre 18 y 28 años de edad. Foxman y Brown (2003), calcularon que, a la edad de 32 años la mitad de las mujeres en los EE.UU. habían tenido un episodio de infección urinaria. Asimismo, los mismos autores hallaron que el 36,25% de los casos positivos eran pacientes con infecciones asociadas a los cuidados de la salud (IACS). Según Pérez y Bravo (2014), la prevalencia de pacientes con IACS es de 40%

aproximadamente, con un 23% de pacientes internados en unidad de cuidados intensivos.

Por otra parte, en el presente estudio se obtuvo que el 23,75% con ITU positiva eran mujeres embarazadas. Reyes, Gómez y Rodríguez (2013), reportaron un 54% de mujeres embarazadas con ITU. Sin embargo, Zboromyrska y col. (2019), señalan que entre 2%-8% de las gestantes, dependiendo del estatus socioeconómico, presentan ITU en el primer trimestre y la prevalencia aumenta con la edad y paridad. Sin embargo, el embarazo por sí mismo no parece incrementar la frecuencia de bacteriuria. Otro de los factores subyacentes detectados fue la diabetes, que el 10% de los casos positivos correspondían a pacientes diabéticos, aunque cabe resaltar que esta proporción aumenta al 80%, sabiendo que de 10 pacientes diabéticos, 8 presentaron ITU. En el caso de patologías como diabetes mellitus las mujeres presentan una prevalencia de bacteriuria de 14,2 veces mayor que los pacientes sin esta patología (Pérez y Bravo, 2014).

Con respecto a los pacientes que estaban recibiendo antibioticoterapia, el 27,5% presentaron positividad en el urocultivo, relacionándose con la presencia de infección con bacterias resistentes a los antibióticos. En la mayoría de las investigaciones realizadas tanto a nivel hospitalario como ambulatorio, se ha detectado un incremento en la resistencia bacteriana. Los programas epidemiológicos dedicados a estudiar y hacer seguimiento de este tema en el ámbito internacional, informan que aunque este ascenso es constante, los porcentajes varían ampliamente dependiendo de las regiones geográficas y los países (López y Campuzano, 2013).

De las 150 muestras de orina analizadas hubo un crecimiento positivo en un 53,3% en relación al 46,7% de negatividad. Este resultado se relaciona estrechamente con los reportados con Reyes col, (2013), ya que ellos reportaron una prevalencia del 54% de positividad en los urocultivos y un 46% de casos negativos. Aunque discrepa con los reportados por otros autores. Tal es el caso de Aycachi (2019), quien obtuvo una prevalencia para los casos

negativos en un 73,7% y Guerrero (2018), en el cual encontraron 20,14% pacientes con Urocultivo positivo y 79,86% de Urocultivo negativo.

No obstante, al evaluar la efectividad del conteo de PMN como prueba diagnóstica según los resultados obtenidos en los urocultivos, se halló un bajo rendimiento en todos los valores predictivos, alcanzando una sensibilidad de 56,7; especificidad de 58,3; VPP de 61,5 y el VPN de 53,4. Aunque se obtuvieron valores de Especificidad y VPP mayores a los reportados por Aycachi (2019) quien obtuvo una sensibilidad de 80,2%; especificidad de 46,6%; un VPP de 34,8% y el VPN de 86,9%. A diferencia de Mujica (2018), quien reportó una sensibilidad de 89,0% y especificidad de 86,7%, valores predictivos positivo y negativo de 74,7% y 94,7%, respectivamente. Pérez y Bravo (2014), citan sensibilidades entre 95-97% con especificidades entre 80 y 94%. Cabe señalar que hubo un gran número de casos positivos que reportaron PMN por debajo de los 4 leucocitos XC, lo cual influye en el resultado de los valores de validez predictivos, al aumentar los falsos positivos y falsos negativos. Este conteo se relacionó con los encontrados por Arambula (2004), al relacionar la cantidad de leucocitos con el recuento de colonias, observó que cerca del 40% correspondía a menos de 5 leucocitos por campo.

La determinación de morfotipos bacterianos a través de la coloración de Gram tampoco presentó valores de validez predictiva. Se alcanzó un grado de sensibilidad de 55,9, especificidad de 44,6%, VPP 47,9 y VPN de 52,6. La sensibilidad de esta coloración reportada para recuentos de 10^5 UFC/mL ha sido del 95%, del 90% para recuentos de 10^4 UFC/mL de orina y del 78% para recuentos de 10^3 UFC/mL de orina. Y un valor predictivo negativo del 99 % para recuentos de 10^5 UFC/ mL de orina: del 94% para recuentos de 10^4 UFC/mL de orina y del 81% para recuentos de 10^3 UFC/mL de orina (Arambula, 2004). Cabe resaltar que en este estudio, la observación de bacterias escasas en el Gram se asoció con valores falsos negativos.

En cuanto a la etiología identificada en este estudio se observó que el 59,3% de las bacterias presentes correspondieron a bacilos Gram negativos, y la

especie más frecuente fue *E. coli* en un 80%, seguido de otros bacilos Gram negativos y de cocos Gram positivos en 44%. Este resultado concuerda con lo reportado por Arambula (2004), Aycachi (2019) y Mujica (2018). Afirmando así que *Escherichia coli* es el agente etiológico del 80% de las bacteriurias asintomáticas en ambientes comunitarios. Otras *Enterobacteriaceae* como *P. mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter* spp. pueden ser aislados con relativa frecuencia. Entre las bacterias grampositivas, se cuenta con *Enterococcus* spp, *S. aureus* y *S. saprophyticus*, en orden de frecuencia (Pérez y Bravo, 2014).

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMEDACIONES

Conclusiones

La coloración de Gram y el sedimento urinario en conjunto demostraron que como método de tamizaje predicen el resultado del urocultivo.

La sensibilidad y especificidad del método depende del punto de corte del conteo de PMN y la cantidad de bacterias en el frotis, ya que el conteo escaso de bacterias y recuentos menores de 4 leucocitos por campo aumenta los posibles falsos negativos.

Aunque los valores de validez predictiva fueron bajos, aun se consideran con buen nivel de predicción de infección urinaria. Sin embargo, el urocultivo sigue siendo la prueba más veraz y efectiva en el hallazgo de ITU.

Los objetivos planteados se alcanzaron en cada una de sus etapas, aunque se esperaban obtener valores más cercanos a los documentados, se considera que aun esta prueba es de gran valor en el esquema de determinación e identificación bacteriana.

Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones con respecto de la coloración de Gram, esta no se debe omitir de hacer en cualquiera de las metodologías que se utilicen en el Laboratorio para llevar a cabo la investigación de la ITU. Se debe replantear su utilización como una herramienta en el diagnóstico presuntivo de las ITU.

Recomendaciones

Para la realización de la técnica de coloración de Gram es preciso tener entrenamiento en su ejecución, así como en el reconocimiento de las estructuras morfológicas de células y microorganismos, ya que la pericia del analista influye de manera directa sobre los reportes del contaje e identificación morfológica bacteriana.

Se considera que aún queda tema por describir en cuanto a la coloración de Gram. Por lo tanto, se podrían hacer investigaciones dirigidas a su evaluación frente a otras metodologías diagnósticas utilizadas.

Se recomienda a la escuela de Bioanálisis de la Universidad de los Andes ampliar esta línea de investigación y reforzar la enseñanza/aprendizaje de la técnica y su total dominio como base de las destrezas del futuro profesional.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOHEMEROGRAFIA

Agudelo, C. y Castañeda E. (1998). Coloración de Gram. Instituto Nacional de Salud. España: Grupo de Microbiología. pp. 5-8.

Añamuro, A. (2018). Relación entre el diagnóstico de infección del tracto urinario mediante coloración Gram y urocultivo en gestantes del centro de salud Caracoto 2017. Tesis de Grado. Universidad Alas Peruanas. Perú

Arámbula, A. (2004). La Coloración de Gram en el Diagnóstico de la Infección Urinaria. *Salud UIS*; 36:132-137.

Arias, F. (2012). El Proyecto de Investigación. 6ta. Edición. Caracas: Episteme, pp. 47-56

www.bdigital.ula.ve

Aycachi, A. (2019). Correlación entre el Examen Completo de Orina con el Urocultivo para el diagnóstico de Infecciones Urinarias en pacientes adultos del Hospital II Huaycán. Tesis de grado. Universidad Peruana Unión. Perú.

Cardona, L., Rojas, N. y Zabalaga, L. (2008). Leucocituria y tinción de Gram para el diagnóstico de infección urinaria. *Rev. bol. ped.*, 47(2):81-85.

Castellanos, M. (1998). Guía práctica de microbiología de la escuela de Bioanálisis de la Universidad del Zulia.

Chapin, K. Dahlberg, S. y Edberg, S. (1992). Clinical and laboratory analyses of cytopsin-prepared gram stains for recovery and diagnosis of bacteria from sterile body fluids. *J Clin. Microbiol*; 30: 377-80.

- Cisternas, O. (2007). La tinción de Gram como herramienta de uso diario en el diagnóstico precoz de algunos patógenos. *Revista del hospital del niño. Panamá*; 2: 12-19
- De Cuento, M. (2013). Infección de tracto urinario unidad 2. La microbiología en el diagnóstico de la infección del tracto urinario vol. 2 (11) Madrid: Elsevier.
- Díaz, P. (2002) et al. Utilidad de la citocentrifugación en el diagnóstico bacteriológico microscópico de fluidos corporales. *Rev. chil. infectol*, vol.19, n.3 pp. 167-173.
- Drew LW. Cokerill FR. y Henry NK. (2011) In: Wilson Wr, Sande MA, Current. Diagnosis & Treatment in infectious diseases. International Edition. United States: McGraw-Hill Companies; p 43-64.
- Echevarría, J., Sarmiento, E. y Osorio, F. (2006). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta méd. Peruana*; 23(1): 37-45
- Engleberg NC. (1994) Principios Diagnósticos. En Schaechter M, Medoff G, Eisenst BI, Guerra H. *Mecanismos de las enfermedades infecciosas*. 2ª ed. Argentina: Editorial Medica Panamericana, P. 691-708.
- Foxman, B. y Brown, P. (2003). Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin Nirth Ame*; 17: 227-268
- García, P., Camponovo, R., Triantafilo, V., Braun, S., Cona, E. (2001). Métodos de diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. *Rev chilena infect*, 18(1):34-8.

Gram, H. (1884). Uber die isolierteFarbung der Schizomycetes in Schnitt und Trockenpreparaten. *Fortscher Med*; 2(6): 185-9.

Guerrero, P. (2018). Relación entre el examen completo de orina y el urocultivo en el diagnóstico de infecciones urinarias en pacientes del Hospital III José Cayetano Heredia-Piura, en el primer semestre del 2016. Tesis de grado. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). Desarrollo de la perspectiva teórica. Revisión de la literatura y construcción del marco teórico. En: *Metodología de la investigación*. Chile: Mc Graw Hill, p. 60

Hummers, E. y Kochen, M. (2002). Urinary tract infections in adult general practice patients. *Br J Gen Pract*; 52:752-761.

Hurtado, J. (2010). El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la Investigación. Bogotá-Caracas: Ediciones Quirón, pp. 97-151.

Jiménez, A. (2012). Biomarcadores de infección en urgencias: ¿cuáles pueden ser útiles? *Emergencias*; 24: 343-345.

Jiménez, A. (2017). Utilidad de los biomarcadores para predecir bacteriemia en los pacientes con infección en urgencias. *Rev. Esp. Quimioter*; 30(4): 245-256

Koneman, E. Allen, S. Janda, W. Schreckenberger, P. Winn, W. (2008). *Diagnóstico microbiológico*. Texto y atlas color. Ed. 6ª. Barcelona: Editorial Médica Panamericana; p. 6.

Ledermann W. (2003). En los 500 años del descubrimiento: “colones” y “pinzones” de la microbiología. *Rev Chil Infect Edición Aniversario*; 18-20.

Lopardo, H. (2013). Urocultivo. Criterio de interpretación e informe. Vol. III. Argentina: Britania, p. 4-20

López, J. (2005). Utilidad del citoquímico y la coloración de Gram en muestras de orina en el diagnóstico de las infecciones del tracto urinario en pacientes hospitalizados. *Iatria*; 18(4): 377-384.

López, J. y Campuzano, M. (2013). El urocultivo: prueba ineludible para el diagnóstico específico de la infección del tracto urinario y el uso racional de los antibióticos. *Medicina y laboratorio*; 19(5-6): 211-242

Lozano, J. (2001). Infecciones urinarias. Clínica, diagnóstico y tratamiento. *OFFARM*; 3(1): 99-106

McLaughlin, S. y Carson, C. (2004). Urinary tract infections in women. *Med Clin North Am*; 88(2):417-29.

Mujica, L. (2018). Desempeño de la coloración Gram y sedimento urinario en conjunto como método de tamizaje previo al Urocultivo en muestras de orina recolectadas en el servicio de emergencia en un hospital nacional del Perú, 2017. Tesis de Grado. Universidad Nacional Mayor de San Marco. Perú.

Nicolle, L., Bradley, S., Colgan, R., Rice, J., Schaeffer, A. y Hooton, T. (2005). Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis*;40:643-654.

Oconitrillo, M. (2016). Infección urinaria en niños. *Rev. Med Cost Ric y Centroam*. LXXIII (618): 125-130.

- Palella, S. y Martins, F. (2010). Metodología de la Investigación Cuantitativa. Venezuela: FEDUPEL, pp.125- 184.
- Pérez, A. (2009). Guía metodológica para Anteproyectos de Investigación. Venezuela: FEDUPEL, pp. 71.
- Pérez, C. y Bravo, J. (2014). Utilidad del gram de orina en patología quirúrgica urológica: una herramienta olvidada. *Urol Colomb*; 23(1):30-34
- Pezzlo, M. York, M. (2004). Urine cultures. En: Isenberg HD, ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2ª ed. Washington: American Society for Microbiology; p. 3.12.1–12.31
- Reyes, A., Gómez, A. y Rodríguez, J. (2013). Validez del parcial de orina y el Gram en el diagnóstico de infección del tracto urinario en el embarazo. Hospital Simón Bolívar, Bogotá, Colombia, 2009-2010. *Rev Colomb Obst y Ginec*; 64(1): 53-59.
- Santiago, A. (2003). Hans Christian Joachim Gram. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 23(2): 200-201.
- Schaeffer, A. y Schaeffer, E. (2012). Infections of the Urinary Tract. In: McDougal W, Wein A, Kavoussi L, et al, eds. *Campbell-Walsh Urology*. 10th Ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; p. 46-55.
- Schmiemann, G., Kniehl, E., Gebhardt, K., Matejczyk, M. y Hummers, E. (2010). The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Dtsch Arzteb Wochenschr*; 117:361-367.

- Solano, A. Solano, A. y Ramírez, X. (2020). Actualización del manejo de infecciones de las vías urinarias no complicadas (Update on the management of uncomplicated urinary tract infections). *Rev Méd Sinerg* 5 (2).
- Tamayo M. y Tamayo, M. (2010). El Proceso de la Investigación Científica. México: Limusa, pp. 112-115.
- Thoint. L. y Masselin, E. (1889). Précis de Microbiología. Paris: G Mason et fils, p. 148.
- Tortora, G., Funke, B., y Case, C. (2007). Introducción a la Microbiología. (9ª edición). México: Editorial Médica Panamericana. 988.
- Velasco, J., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Ramírez, A., Sánchez, K. y Velazco, E. (2008). Manual práctico de bacteriología clínica. Mérida-Venezuela: CODEPRE.
- Villarroel, N. Agreda, C. y Salcedo, L. (2008). Leucocituria y tinción de Gram para el diagnóstico de infección urinaria. *Rev. Soc. Bol. Ped.*; 47 (2): 81- 5
- Vizcaya, L., Araque, M., Nieves, B. Sánchez, K., Velázquez, A., Velazco, E. (1999). Manual Práctico de bacteriología. Universidad de los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis, Departamento de Microbiología y Parasitología, Catedra de Bacteriología clínica.
- Zboromyrska, Y., de Cueto, M., Alonso, C. y Sánchez, V. (2019). 14b. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Zboromyrska Y (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España: SEIMC, p 28-53.

ANEXOS

Anexo. ENCUESTA: DEL PACIENTE PARA PROCESAMIENTO DE UROCULTIVO

PROTOCOLO DE INGRESO

Fecha: _____ Numero de muestra _____

Apellidos: _____ Nombres: _____

Edad: _____ Sexo F: M:

Referido de: _____

Paciente: Hospitalizado Comunitario

Diagnóstico Clínico de Ingreso:

¿Cuál?: _____

Recibe Terapia antimicrobiana SI NO

Especifique que antibiótico/días _____

FACTORES SUBYACENTES	
Diabetes	
Enfermedad Renal	
Parálisis	
Coma	
Úlcera decúbito	
Tratamiento Corticosteroides	
Radiación	
Desnutrición	
Deshidratación	
Inmunosupresión	
Cáncer	
Hipertensión	
Embarazo	

FACTORES PREDISPONENTES	SI	NO	Días
Catéter central			
Catéter urinario			
Drene			
Fijador			
Prótesis			
Ventilación mecánica			
Punción lumbar			
Quimioterapia			
Apósitos- Vendajes			
Sonda nasogástrica			
Tubo de tórax			
Venoclisis			
Traqueotomía			
Dialisis			
Curación			
Oxigenación			
Hiperalimentación parental			
Transfusión			
Punción			
Proced Diagnóstico			
Cirugía			
Otros			

