



1859

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TITULO

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO – JUNIO 2013.

Tesis previa a la obtención del título en Licenciado en Laboratorio Clínico.

AUTOR:

FRANCISCO GABRIEL TORRES PAREDES.

DIRECTORA:

BIOQ. ELIZABETH BETANCOURTH.

LOJA – ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

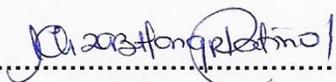
BIOQ. Elizabeth Betancourth.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que la presente tesis titulada “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2013**” elaborado por el señor Francisco Gabriel Torres Paredes ha sido desarrollada, corregida y orientada bajo mi dirección, cumpliendo los requerimientos reglamentarios para su aprobación, por lo tanto faculto al autor para su presentación, disertación y defensa.

Loja, 19 de Junio del 2013;



.....
BIOQ. Elizabeth Betancourth

DIRECTORA DE TESIS



.....
Francisco Gabriel Torres Paredes

AUTOR

AUTORÍA

Yo, Francisco Gabriel Torres Paredes, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual.

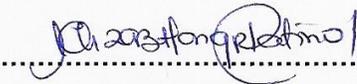
Loja, 19 de julio del 2013;



Francisco Gabriel Torres Paredes

C.I. 0705365443

AUTOR



BIOQ. Elizabeth Betancourth
DIRECTORA DE TESIS

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR, PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, **FRANCISCO GABRIEL TORRES PAREDES** declaro ser autor de la tesis titulada **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚGICO, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO – JUNIO DEL 2013”**, como requisito para optar al grado de **Licenciado en Laboratorio Clínico**; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los ocho días del mes de Julio del dos mil trece, firma el autor.

Autor:



Francisco Gabriel Torres Paredes

Cédula: 0705365443

Dirección: El Dorado **Correo Electrónico:** los_msbusk2@yahoo.es

Teléfono: 2576-765 – 2510-749. **Celular:** 0990708752 / 0984158816

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de tesis: Bioq. Elizabeth Betancourth.

Tribunal de grado:

Presidente: Dr. Tito Carrión Dávila.

Vocal: Dra. Sandra Freire Cuesta.

Vocal: Lic. Enma Flores Pérez.

DEDICATORIA

El siguiente agradecimiento va dirigido a Dios por ser quien guía nuestras acciones y las motiva de forma positiva el cual está en todas partes cuidándonos y protegiéndonos.

Esté trabajo investigativo que con sacrificio y dedicación culmino con éxito, va dedicado al ser que guía mis acciones y las motiva de una manera positiva y que está en todas partes cuidándome y protegiéndome, Mi Madre.

Dedico este proyecto de tesis a mi Madre y a mi Hermana, quienes a lo largo de mi carrera han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora.

Dedico a toda mi familia, quienes me han apoyado en todos los momentos en los cuales necesite de ellos.

A mis compañeros y amigos, por todos esos momentos de tensión que vivimos juntos a la hora de salir adelante en nuestros estudios. Por los años compartidos llenos de alegrías y tristezas.

Francisco Torres Paredes.

AGRADECIMIENTO

Mi inmensa gratitud a la Universidad Nacional de Loja, a la Carrera de Laboratorio Clínico la cual me abrió sus puertas para prepararme, para ser un profesional y así forjarme como persona de bien. A sus autoridades, personal docente y administrativo quienes aportaron con su trabajo y conocimiento, para poder desarrollarme en este ámbito tan competitivo.

De manera especial, mi gratitud muy sentida:

Al personal que labora en el Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Médico del Área de La Salud Humana en especial al Lic. Fabricio Jaramillo y a la Lic. Mercedes Riascos.

A su vez exteriorizo el agradecimiento al Jefe del Centro Quirúrgico del Hospital Regional Isidro Ayora Dr. Vicente Factos, el cual me permitió realizar la toma de muestras en esta área.

A mi Directora de Tesis Dra. Elizabeth Betancourt quien me brindó su paciencia y apoyo; impartíendome sus conocimientos profesionales y científicos en la culminación de éste trabajo.

En la vida hay momentos de cambios, donde hay que tomar decisiones y emprender nuevos propósitos, es por eso que agradezco a todas las personas que directa o indirectamente estuvieron tras del desarrollo de esta investigación.

El autor.

I. TÍTULO

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2013.

II. RESUMEN

Las infecciones nosocomiales son aquellas producidas por microorganismos adquiridos en el hospital, que afectan a enfermos ingresados por un proceso distinto al de esa infección y que en el momento del ingreso no estaban presentes ni en periodo de incubación. Este trabajo de investigación se lo realizó en el Hospital Regional Isidro Ayora, con el interés de identificar los principales agentes bacterianos en el ambiente del centro quirúrgico que predisponen infecciones nosocomiales, y contribuir con datos relevantes para la prevención de futuras infecciones; en la investigación realizada el tipo de estudio empleado es Exploratorio – Transversal, se recolecto 100 muestras que fueron tomadas del ambiente de los quirófanos uno, dos y tres; antes y después de cirugía; el procesamiento de identificación bacteriológica se lo realizó en el Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Medico del Área de la Salud Humana, en donde se aisló los microorganismos por métodos microbiológicos manuales, identificándose *Estafilococos coagulasa negativos* que corresponde a un 68%; *Streptococos pyogenes* con un 13%, *Enterobacter spp.*, con un 10%, *Streptococos viridans* en un 8%; y *Estafilococos aureus* con el 1%. Los resultados obtenidos de la investigación fueron entregados y puestos a consideración del encargado del Centro Quirúrgico de la entidad ya antes mencionada, para que tome medidas preventivas y de control.

Palabras clave: infección nosocomial, bacterias, ambiente de los quirófanos.

SUMMARY

The infections nosocomiales are those taken place by microorganisms acquired in the hospital that you/they affect sick persons entered by a process different to that of that infection and that in the moment of the entrance they were not present neither in period of incubation. This investigation work was carried out it in the Regional Hospital Isidro Ayora, with the interest of to identify the bacterial main agents in the atmosphere of the surgical center that you/they predispose infections nosocomiales, and to contribute with outstanding data for the prevention of future infections; in the carried out investigation the type of study employee is Exploratory. Traverse, you gathers 100 cultivations, samples that were taken of the atmosphere of the quirófanos, one, two three; and after each surgery; the prosecution of bacteriological identification was carried out it in the Clinical Laboratory of the Center of Diagnosis I Prescribe of the Area of the Human Health where was isolated the microorganisms by methods manual microbiologics, *Staphylococcus negative coagulasa* that corresponds to 68% being identified; *Streptococcus pyogenes* with 13%, *Enterobacter spp.*, with 10%, *Streptococcus viridans* in 8%; and *Staphylococcus aureus* with 1%. The obtained results of the investigation were given and positions to consideration of the one already in charge before of the Surgical Center of the entity mentioned, so that he/she takes preventive measures and of control.

Wordskey: infection nosocomial, bacteria's, atmosphere of the quirófanos.

III. INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales son aquellas producidas por microorganismos adquiridos en la estancia hospitalaria, que afectan a enfermos ingresados por un proceso distinto al de esa infección, y que en el momento del ingreso no estaban presentes ni en periodo de incubación si no que fueron adquiridas por el ambiente hospitalario. (1)

Los pacientes hospitalizados están expuestos a un alto riesgo de padecer infecciones intrahospitalarias o nosocomiales; debido a las enfermedades subyacentes por las que están ingresados, y este riesgo se eleva cuando son sometidos a técnicas invasivas. Si los pacientes están inmunocomprometidos, pueden ser infectados por microorganismos que en condiciones normales no son patógenos. (2)

Según la Organización Mundial de la Salud (2009), determina que la infección nosocomial es de distribución mundial y que afecta en promedio al 5% y el 10% de pacientes que ingresan de los hospitales, produciendo morbilidad agregada, mayor estancia hospitalaria, imposibilidad de ingreso para otros pacientes y aumento en la letalidad cercana al 3% de los infectados. En algunos países en desarrollo, el porcentaje de pacientes afectados puede superar el 25%. (3)

De acuerdo con diversos informes durante la década de los ochenta la infección post operatoria fue la segunda causa de infección nosocomial en distintos hospitales nacionales, ocasionando alrededor de 20% de las infecciones nosocomiales. En el estudio del National Nosocomial Infection Surveillance realizado en Estados Unidos, la infección nosocomial más frecuente en los pacientes quirúrgicos fue la infección de sitio quirúrgico 37%, 24% fueron incisionales y 13%, de órganos y espacios. (3)

Actualmente el Instituto de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez (2009), ha reportado una gran variedad de microorganismos como causantes de infecciones nosocomiales, así más del 50% de las infecciones nosocomiales son provocadas por *Pseudomonas spp*; *Escherichia coli* con un 33%, *Estafilococos aureus* 25%,

Estafilococos coagulasa negativos 20%, *Enterobacter spp.* 10%, *Serratia marcenses* 8%, evidenciándose que la contaminación por gérmenes en los hospitales sigue siendo un problema que cada vez toma más fuerza. (4)

Motivo por el cual se realizó la: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO - JUNIO DEL 2013. Siendo que el principal propósito sea; Identificar los agentes bacterianos presentes en el ambiente del centro quirúrgico, y así contribuir con datos relevantes para la prevención de futuras infecciones. Se realizó 100 cultivos bacterianos encontrándose que el 68% corresponde a *Estafilococos coagulasa negativos*, *Streptococos pyogenes* con un 13%, *Enterobacter spp.*, con el 10%, *Streptococos viridans* con un 8% y *Estafilococos aureus* con el 1%. Para finalizar se entregó los resultados al encargado del centro quirúrgico de la entidad antes mencionada.

IV. REVISIÓN LITERARIA

INFECCIONES NOSOCOMIALES

La infección nosocomial es un proceso dinámico como consecuencia de la penetración de gérmenes en la intimidad de los tejidos, poniendo de manifiesto la reacción orgánica frente a los microorganismos y sus toxinas.

A pesar de la cirugía aséptica y de la utilización de agentes antimicrobianos, las infecciones quirúrgicas son hoy tan frecuentes como en el pasado, con las repercusiones económicas, sociales e individuales que de ello se derivan. (6)

Los pacientes hospitalizados están expuestos a un elevado riesgo de padecer infecciones por varias razones. En primer lugar, los pacientes hospitalizados son más susceptibles a la infección debido a las enfermedades subyacentes por las que están ingresados, y este riesgo se eleva cuando son sometidos a técnicas invasivas. Si los pacientes están inmunocomprometidos, pueden ser infectados por microorganismos que en condiciones normales no son patógenos. Además, el ambiente hospitalario contiene agentes patógenos que han desarrollado resistencias a antibióticos y que complican el tratamiento posterior de estas infecciones. (7)

RESERVORIOS O FUENTES DE MICROORGANISMOS.

Personal quirúrgico

Las gotas de saliva producidas al hablar pueden contener microorganismos patógenos en personas portadoras, como *Streptococcus pyogenes* y *Stafilococcus aureus*. Las esporas de *Clostridium perfringens* son muy resistentes y pueden contaminar el material sanitario. La transmisión puede producirse en el momento del acto quirúrgico o más tarde, en el período de convalecencia, particularmente en las curas de la herida. (8)

El tracto respiratorio superior en ausencia de enfermedad no es un reservorio importante, ya que la mayoría de las bacterias que se encuentran en el aire del quirófano se desprenden de la piel y no del tracto respiratorio del personal.

Las manos de los miembros del equipo quirúrgico son un reservorio potencial para los microorganismos que causan infección nosocomial, pero la limpieza preoperatoria de las mismas, unida al uso de guantes quirúrgicos minimizan las posibilidades de propagación a partir de este reservorio. (8)

La piel de otras áreas del cuerpo también puede ser una fuente de microorganismos que contaminen el campo quirúrgico. Muchos de los materiales utilizados en la fabricación de las batas quirúrgicas no son barreras efectivas para las bacterias de la piel o ropas, y por ello en los últimos años se ha trabajado para mejorar la calidad de estos materiales. Otro reservorio posible de microorganismos del personal de quirófano puede ser el pelo y el cuero cabelludo, a partir de los cuales se han descrito algunos brotes de infección quirúrgica. (8)

Pacientes

El reservorio más importante para las infecciones nosocomiales son las diferentes localizaciones corporales del paciente. De hecho la mayoría de estas infecciones son causadas por microorganismos pertenecientes a la flora habitual de la piel y diversas superficies mucosas. Estos reservorios están constituidos por microorganismos de la flora cutánea normal (*Estafilococos epidermidis*), tracto gastrointestinal (*Escherichia coli*, *Clostridium difficile*), tracto genital femenino y tracto respiratorio superior. Los microorganismos pueden llegar a la herida a partir de la piel del paciente, si ésta está colonizada debido a una enfermedad cutánea o no es preparada adecuadamente con antisépticos antes de la intervención. (8)

Además, cuando se abren el tracto biliar, urinario y respiratorio bajo, los sitios quirúrgicos pueden ser contaminados tanto por la flora normal gastrointestinal, genital o del tracto respiratorio superior, como por microorganismos que normalmente producen infección en estas localizaciones. (8)

La inoculación de la herida por microorganismos contenidos en las vísceras huecas se produce por la perforación o por intervenciones quirúrgicas en las mismas. La contaminación en la cirugía tiene lugar de manera directa cuando una

víscera hueca es perforada, penetrada o seccionada, o por diseminación linfática o hematógena desde un foco de infección a distancia. (8)

Medio Ambiente

El medio ambiente del quirófano se ha visto implicado en raras ocasiones como una fuente de microorganismos que ocasiona infecciones del sitio quirúrgico. Actualmente se han descrito algunos casos de infección por *Clostridium perfringens*, complicación poco frecuente pero de consecuencias fatales en los sitios quirúrgicos, pero no se ha llegado a una conclusión sobre el reservorio de estos microorganismos, el cual pudiera estar en la flora del paciente, en el material de quirófano mal esterilizado o en el aire acondicionado, todos estos lugares donde se ha podido aislar la bacteria tras los casos de infección. (8)

Otros reservorios de materiales inanimados que pueden penetrar en una herida quirúrgica son los antisépticos (*Pseudomonas spp*), así como vendajes mal esterilizados. (8)

MECANISMO DE TRANSMISIÓN DE LOS MICROORGANISMOS.

Transmisión por contacto directo:

Un modo de transmisión potencial por contacto directo son las manos de los miembros del equipo quirúrgico. Los microorganismos podrían ser transmitidos desde la piel al campo quirúrgico a través de agujeros en los guantes. Hay pocos datos en la literatura que indiquen que este tipo de transmisión es importante y las punciones en los guantes no se han asociado a una mayor tasa de infecciones del sitio quirúrgico. Ya se ha reseñado anteriormente que hay pocas bacterias en la superficie de la piel de las manos enguantadas, a menos que se padezca una dermatitis o una lesión infecciosa. (8)

Asimismo se sabe que los microorganismos de la piel y ropas del personal pueden atravesar fácilmente los tejidos de las vestimentas quirúrgicas y ser recuperadas en el campo quirúrgico, aunque no está claro que esta penetración conlleve

necesariamente a infecciones nosocomiales. Schwartz y Saunders demostraron que los microorganismos pasaban rápidamente a través de las ropas del equipo quirúrgico y podían ser cultivadas de la superficie exterior de las mangas de muchas batas en los cinco minutos posteriores del lavado. (8)

Dada la baja patogenicidad de la flora cutánea, el contacto con las vestimentas quirúrgicas probablemente sea un modelo de transmisión de microorganismos poco importante. El modo de transmisión de la flora que contienen las vísceras huecas puede ocurrir por contacto directo con instrumentos contaminados, esponjas o soluciones irritantes, o por las manos del equipo quirúrgico. Ritter encontró que más del 53% del instrumental se contamina durante las intervenciones en quirófanos con ventilación convencional. Este estudio fue llevado a cabo en cirugía limpia y los microorganismos predominantes fueron *Estafilococos coagulasa negativos*, no proporcionando ninguna evidencia de transmisión entérica de microorganismos. (8)

Las infecciones quirúrgicas también pueden ser producidas por el contacto directo con objetos inanimados como antisépticos y vendajes. Los microorganismos son transmitidos por contacto directo cuando los antisépticos contaminados se aplican directamente en el lugar de la incisión justo antes de comenzar la intervención. La transmisión desde los vendajes a la herida tiene lugar tras la intervención, cuando se cubre la incisión. (8)

Contacto indirecto

La contaminación de la herida quirúrgica se puede producir por un contacto indirecto cuando gotas de secreciones o partículas desprendidas de la piel o el pelo caen dentro de la herida. Uno de los principales temas estudiados durante años ha sido las gotas que pueden transportar bacterias desde la nariz y la boca a la herida. Esto condujo hace muchos años a la práctica de la utilización de una mascarilla para cubrir la nariz y la boca. (8)

Sin embargo, no se han publicado estudios definitivos que hayan establecido esta ruta como un modo importante de transmisión cuando no se utiliza la mascarilla. Se han realizado estudios utilizando partículas de albúmina como marcadores para observar su paso a través de la mascarilla y su relación con la charla durante la intervención y, aunque se ha visto que pueden pasar a través del borde inferior de ésta y que su paso se incrementa al hablar, no se ha podido demostrar que los microorganismos transmitidos desde el aparato respiratorio superior del personal puedan ser causa de infecciones quirúrgicas postoperatorias. (8)

El único dato que sugiere que las partículas que transportan microorganismos pueden ser transmitidas desde la piel a la herida por contacto indirecto fue presentado por Wiley y Ha'eri. Estos investigadores aplicaron microesferas de albúmina humana en la frente y sienes de los cirujanos durante 30 intervenciones y demostraron contaminación de la herida con las microesferas en el 100% de los casos. El equipo quirúrgico durante la intervención utiliza gorros para proteger a la herida de la posible contaminación con microorganismos del pelo. Aunque hay razones para pensar que si el pelo cae dentro de la herida conllevaría un serio riesgo de contaminación, hay pocos estudios que definan exactamente el riesgo de contaminación desde esta fuente. (8)

Transmisión aérea

Aunque los microorganismos pueden ser transmitidos a la herida quirúrgica desde el aire, son pocos los estudios que han podido documentar esta posibilidad desde una fuente determinada. Es bien conocido que las fuentes de microorganismos del aire del quirófano son las personas, tanto los pacientes como el personal. Los microorganismos son transportados en gotículas generadas en el tracto respiratorio superior, o escamas de la piel. Sin embargo, no se ha podido demostrar si los microorganismos que hay al final de la intervención sobre la herida han llegado por la vía del contagio directo o indirecto, o si llegaron por ruta aérea, o por ambos modos de transmisión. Por ello, ha sido difícil establecer la

importancia de la vía aérea en ausencia de una fuente exacta para los microorganismos encontrados en el aire del quirófano. (8)

El único organismo que se ha probado su transmisión aérea en el quirófano y posterior infección ha sido el *Streptococcus pyogenes*.

En la mayoría de las ocasiones en las que se ha implicado la transmisión aérea en la aparición de infecciones post quirúrgicas, nunca se ha podido establecer la fuente exacta de infección. Se han llevado a cabo comparaciones entre la tasa de infección post operatoria de intervenciones realizadas en quirófanos con sistemas especiales de ventilación que proporcionan un aire ultralimpio y sistemas de ventilación convencionales, pero las diferencias halladas no han sido significativas. También se han comparado tasas de infección en quirófanos con o sin sistemas de flujo laminar de aire, con idénticos resultados. (8)

BACTERIAS

Son organismos formados por una sola célula, de pequeño tamaño. La estructura celular bacteriana es procariótica y se caracteriza porque su región nuclear, nucleoide, que no está rodeada de membrana, consta de una sola molécula de ADN y su división no es mitótica. Carece de estructuras citoplásmicas, por lo que los ribosomas están repartidos por el citoplasma y le confieren un aspecto granular. Además, el citoplasma puede contener gránulos o inclusiones con material de reserva de lípidos, glucógeno, azufre, etc. La pared celular rodea a la membrana citoplasmática y da forma, rigidez y resistencia a la célula; también puede contener peptidoglicano y lipopolisacáridos, compuestos que únicamente se encuentran en estos microorganismos. La estructura y la composición de la pared celular dividen a la mayoría de las bacterias en dos grupos: gram-positivas y gram-negativas. (9) Algunas especies de bacterias producen en su interior estructuras especiales denominadas endosporas y la mayoría de las especies tienen una morfología celular característica: pueden ser esféricas, bacilares, helicoidales, con forma de coma e incluso cuadradas. Unas son móviles y otras no; algunas obtienen energía de los compuestos orgánicos; otras, mediante fotosíntesis, y las

hay que utilizan compuestos inorgánicos, como azufre o hierro, como fuente de energía. (9)

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles. (9)

Bacterias Grampositivas

Se conocen como bacterias Grampositivas a aquellas que no poseen una membrana externa para proteger el citoplasma bacteriano, tienen una gruesa capa de peptidoglicano y presentan ácidos teicoicos en su superficie. También se distinguen por teñirse de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram y es de allí que surge el nombre de Grampositivas.

Elementos distintivos de la bacteria Grampositiva.

- Gruesa capa de peptidoglicano
- Membrana citoplasmática.
- Ácidos teicoicos y lipoteicoicos, que sirven tanto como agentes quelantes y en ciertos tipos de adherencia.
- Polisacáridos de la cápsula.

Durante una infección, el peptidoglicano puede interferir en la fagocitosis y estimular diversas respuestas inmunitarias, como procesos pirogénicos (es decir, que inducen la aparición de fiebre). (9)

Sin el peptidoglicano, la bacteria sucumbe a las grandes diferencias de presión osmótica existentes a uno y a otro lado de la membrana citoplásmica y experimenta un fenómeno de lisis. (9)

Cocos Grampositivos aerobios - anaerobios facultativos.

Estafilococos

Son cocos grampositivos, no móviles, que no forman esporas, catalasa positivos. Estos microorganismos se acomodan como células simples, en pares, en tétradas, pero aparecen en forma predominante en grupos como racimos. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos. Los *Estafilococos* son los únicos microorganismos patógenos de la familia *Micrococcaceae*. (10)

Estos gérmenes se encuentran con mayor frecuencia en la práctica médica. Los *Estafilococos* persisten como un patógeno importante en los hospitales y en la comunidad, son los responsables de más del 80 % de las enfermedades supurativas, encontrándose diseminados en la naturaleza, pueden hallarse en el medioambiente o como comensales de la piel, las mucosas y otros lugares del cuerpo en seres humanos y animales. (10)

Los *Estafilococos* se caracterizan por causar infección por multiplicación tanto local como sistémica, algunas pueden multiplicarse en un sitio localizado y ejercer sus efectos patógenos mediante la producción de exotoxinas o enzimas que actúan a distancia. Las toxinas que son responsables de la intoxicación alimentaria, el síndrome de la piel escaldada y el síndrome de shock séptico. (10)

Estafilococos aureus, forma colonias amarillentas y produce coagulasa. En las placas de agar sangre tiende a formar colonias beta hemolíticas doradas. *Estafilococos aureus* forma parte de la flora normal del ser humano. El sitio más frecuente de colonización es la zona anterior de las vías nasales, aunque también puede colonizar la piel (en particular si está lesionada), la vagina, las axilas, el

perineo y buco faringe. Alrededor del 20-30 % de la población es portador nasal de forma prolongada, y el 70-80 % de forma transitoria. (9)

Estafilococos aureus se caracteriza por causar infecciones cutáneas como lo son; foliculitis simple e impétigo, así como forúnculos y carbuncos que afectan los tejidos subcutáneos y causan síntomas sistémicos, como fiebre. *Estafilococos aureus* se aísla con frecuencia en infecciones de heridas postquirúrgicas, que pueden servir como nido para el desarrollo de infecciones sistémicas. La neumonía estafilocócica adquirida en la comunidad suele observarse en individuos ancianos y esta asociada con neumonía viral como factor predisponente. La neumonía hospitalaria debida a *Estafilococos aureus* se produce en un contexto clínico de pacientes con enfermedad obstructiva crónica e individuos sometidos a intubación y aspiración de secreciones. (10)

Las toxinas de este germen son responsables de la necrólisis epidérmica toxica (síndrome estafilocócico de la piel escaldada) y el síndrome de shock toxico. Las cepas de *Estafilococos aureus* también pueden causar intoxicación alimentaria debido a la producción de exotoxinas durante su proliferación en alimentos contaminados. *Estafilococos aureus* tiene varias propiedades que se cree que contribuyen a su capacidad de enfermar. A pesar de que estos factores de virulencia no se encuentran en todas las cepas, este microorganismo continúa siendo una fuente constante de sorpresas porque se descubren nuevas y diferentes propiedades patogénicas. (10)

Estafilococos Coagulasa Negativos

Los *Estafilococos coagulasa negativos* son cocos grampositivos dispuestos en pares, tétradas, y racimos, provienen del griego *staphyle* que significa racimo de uvas. Se caracterizan por ser catalasa positiva, coagulasa negativa y por producir colonias no hemolíticas de color blanco. Son bacterias residentes de la piel y mucosas sanas del ser humano que constituyen entre el 65 al 90% de los *Estafilococos* aislados en la piel. Son los microorganismos más

frecuentemente aislados en un laboratorio de microbiología; pero dado su ubicuidad y baja virulencia, durante mucho tiempo se los consideró como contaminantes de muestras. En la actualidad se sabe que son importantes patógenos oportunistas nosocomiales, particularmente *Estafilococos epidermidis*, causante de la gran mayoría de las infecciones en las prótesis. (9)

Los *Estafilococos coagulasa negativos* suelen producir autoinfecciones, asociadas casi siempre con el uso de algún tipo de material protésico (catéteres, válvulas cardíacas, prótesis ortopédicas, etc.). Ello se debe a la capacidad, sobre todo de producir sustancias extracelulares de naturaleza polisacárida conocidas como sustancia mucoide o slime que le permite adherirse a estos materiales y a la vez proteger al microorganismo de la acción de los mecanismos de defensa y de los antimicrobianos. (9)

Estafilococos epidermidis; Todos los seres humanos transportan el microorganismo como parte de la flora normal de la piel. Los sitios mas frecuentes incluyen axilas, cabeza, brazos y piernas. Por consiguiente el hombre sirve como una fuente exógena de contaminación para la infección y como una fuente endógena. Casi todas las infecciones por *Estafilococos epidermidis* son adquiridas en el hospital como resultado de contaminación de un sitio quirúrgico. (10)

Estafilococos epidermidis se distingue del *Estafilococos aureus* por ser coagulasa negativo. La mayor parte de las infecciones que produce se deben a algún dispositivo implantado (válvulas cardíacas, prótesis de cadera, marcapasos, etc.) Es un microorganismo que forma biofilms (biopelículas) lo que dificulta su tratamiento. La adherencia específica de la mayoría de las cepas de *Estafilococos epidermidis* a superficies plásticas parece ser mediada en gran parte por un polisacárido-adhesina llamado P S /A. PS/A es una molécula de poliglucosamina, de elevado peso molecular, el tratamiento se basa en la substitución de los implantes con frecuencia y en la vigilancia de los mismos y de sus puntos de inserción. (10)

Estafilococos saprophyticus, Es uno de los principales patógenos causantes de infecciones de vías urinarias en mujeres con actividad sexual. Produce cistitis o pielonefritis, y en los hombres produce de forma ocasional infecciones urinarias en pacientes de más de 50 años. Estos microorganismos aparecen en gran cantidad en la piel, por lo que a menudo contaminan los cultivos. Se ha calculado que del 10 a 25% de los cultivos de sangre en que se identifican *Estafilococos coagulasa negativos* reflejan una bacteriemia verdadera. (10)

Streptococos

Los *Streptococos* constituyen uno de los grupos de bacterias que causa con mayor frecuencia enfermedades en el ser humano. Son cocos grampositivos inmóviles, no formadores de esporas, catalasa-negativos, de forma esférica u ovoide, que se agrupan en parejas o cadenas de longitud variable. Tienen requerimientos nutritivos en ocasiones complejos. La mayoría de ellos son anaerobios facultativos, aunque algunos son anaerobios obligados, la mayoría resulta ser patógena para el hombre. (9)

Según el tipo de hemólisis que producen cuando son sembrados en una placa de agar sangre, los estreptococos se dividen en Beta-hemolíticos (la hemólisis es total), alfa-hemolíticos (la hemólisis es parcial y se produce una coloración verde alrededor de la colonia) y gama-hemolíticos o no hemolíticos (no se produce hemólisis). (9)

Los *Streptococos* se caracterizan por producir exotoxinas o enzimas que causan, el síndrome de shock tóxico estreptocócico, en donde los signos y los síntomas de infección y los rasgos patológicos de la enfermedad se deben en gran parte a los efectos de las exotoxinas. (10)

Streptococos pyogenes: *Streptococos pyogenes* o *Streptococos* β-hemolítico del grupo A, es un microorganismo de gran importancia en patología humana, principalmente en los niños. Son bacterias que en general producen infecciones purulentas y de las que se conocen multitud de factores de patogenicidad. Es

extraordinariamente piogénico, la orofaringe de la especie humana es su reservorio natural, pero puede encontrarse en todo el tubo digestivo. Es la causa bacteriana más común de faringitis aguda y también origina distintas infecciones cutáneas y sistémicas. (10)

Está cubierto por una cápsula mucoide de ácido hialurónico que le proporciona propiedades antifagocitarias. La pared celular es una estructura compleja que contiene distintas sustancias antigénicas. La pared celular está formada por un peptidoglicano que le confiere rigidez. (10)

Streptococcus viridans: Bajo la denominación de *Streptococcus* del grupo viridans, derivada de la coloración verdosa que toma el medio de cultivo alrededor de las colonias, se ha agrupado una serie de *Streptococcus* α -hemolíticos que poseen algunas características ecológicas parecidas y que producen manifestaciones clínicas similares.

Los *Streptococcus viridans* colonizan la bucofaringe, el aparato gastrointestinal y el aparato genitourinario. Rara vez se encuentran en la superficie cutánea, puesto que los ácidos grasos presentes en la misma son tóxicos para ellos. Aunque pueden producir diversas infecciones, se asocian con una mayor frecuencia a las caries dentales, la endocarditis aguda. (10)

Bacterias Gramnegativas

Las bacterias gramnegativas son más complejas que las grampositivas. Desde el punto de vista estructural, una pared celular gramnegativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica se encuentra una delgada capa de peptidoglicano que representa tan sólo un 5% a 10% del peso de la pared celular. Además, la pared celular gramnegativa no contiene ácidos teicoicos ni lipoteicoicos. (10)

En la parte externa de la capa de peptidoglucano se halla la membrana externa (constituye una barrera impermeable a moléculas. También ofrece protección

frente a condiciones ambientales adversas), la cual es exclusiva de las bacterias gramnegativas. La zona comprendida entre la superficie externa de la membrana citoplásmica y la superficie interna de la membrana externa se conoce como espacio periplásmico. Este espacio es un compartimento que contiene diversas enzimas hidrolíticas (proteasas, fosfatasas, lipasas, nucleasas y enzimas metabolizadoras de hidratos de carbono), importantes para la degradación y metabolización por la célula de las macromoléculas de gran tamaño. En el caso de las especies bacterianas gramnegativas patógenas, muchos de los factores de virulencia líricos (p. ej., colagenasas, hialuronidasas, proteasas y betalactamasas) se encuentran en el espacio periplásmico. (10)

Las enterobacterias son microorganismos ubicuos, se encuentran de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación y también en la flora intestinal normal de muchos animales, incluido el ser humano. Producen una gran variedad de enfermedades en el ser humano, como el 30% al 35% de las septicemias, más del 70% de las infecciones del aparato urinario y muchas infecciones intestinales. Sin embargo, poseen ciertos factores de patogenicidad que las hacen más virulentas que otros microorganismos comensales, como las adhesinas, las proteínas quelantes del hierro, las hemolisinas, etc., y la endotoxina, presente en todas las bacterias Gram negativas. (10)

Los miembros de la familia Enterobacteriaceae en su mayoría son bacilos, pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos, y no forman esporas. Todos los miembros pueden crecer rápidamente de forma aerobia o anaerobia. La familia Enterobacteriaceae tiene unos requerimientos nutricionales sencillos: fermentan la glucosa, reducen los nitratos y son catalasa-positivos y oxidasa-negativos. La ausencia de actividad de citocromo oxidasa es una característica importante, debido a que se puede determinar rápidamente mediante una sencilla prueba, y se utiliza para diferenciar a las enterobacterias de otros bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores. (9)

Enterobacter spp., Es un bacilo gramnegativo, que causa fundamentalmente infecciones nosocomiales. Se encuentran de forma primaria como colonizantes en pacientes hospitalizados. Por lo tanto, se consideran patógenos oportunistas que raramente causan infecciones primarias en el hombre. (10)

Aunque pueden producir infecciones de diversas localizaciones de forma aislada, son frecuentes los brotes epidémicos nosocomiales, siendo la propagación de estos a través de las manos del personal del hospital o de la administración de fluidos intravenosos contaminados. Las infecciones más comunes son las infecciones de heridas quirúrgicas, las del tracto respiratorio, las urinarias y las bacteriemias relacionadas con los catéteres intravenosos. Se han descrito casos esporádicos de endocarditis en pacientes con prótesis valvulares y de meningitis secundarias a procedimientos neuroquirúrgicos. No son excepcionales las infecciones de las quemaduras extensas. Los pacientes diabéticos o aquellos con granulocitopenia son muy susceptibles para presentar infecciones por este germen. (10)

MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE LAS INFECCIONES NOSOCOMIALES.

La mayoría de las infecciones del sitio quirúrgico son originadas por bacterias que entran en el quirófano en el momento de la intervención. Los patógenos causales provienen de la microflora endógena del paciente, del ambiente del quirófano, o de los microorganismos de la flora habitual del equipo quirúrgico. La prevención absoluta de las infecciones que se originan a partir del ambiente del quirófano o del personal, requeriría excluir al cirujano y al equipo quirúrgico del quirófano y proporcionar aire estéril al quirófano. Estos métodos están siendo utilizados en la actualidad en la cirugía de implantes ortopédicos.

De este modo, las medidas intervencionistas para prevenir las infecciones nosocomiales pueden ser incluidas dentro de una de estas tres categorías:

- Reducir la cantidad y los tipos de contaminación bacteriana

- Mejorar la condición de las heridas al final de la intervención, a través de una buena técnica quirúrgica, y
- Mejorar las defensas del huésped, o lo que es lo mismo, su capacidad para sobrellevar la contaminación microbiana.

Dado que los acontecimientos críticos que inician el proceso que conduce a la infección tienen lugar pre o intraoperatoriamente, la gran mayoría de estas medidas de control serán aplicadas antes o durante la intervención, aunque algunas se apliquen tras la intervención, como los cuidados postoperatorios de la herida y las medidas terapéuticas intervencionistas. (11)

Control Del Personal. La actividad del personal del quirófano, incluyendo el habla y los movimientos, es responsable del incremento de los contajes aéreos bacterianos. Estos microorganismos están normalmente vehiculizados por partículas de polvo, por escamas desprendidas desde áreas descubiertas de la piel del personal, o por las secreciones respiratorias generadas en una conversación, sedimentándose rápidamente, pero pueden contaminar los sitios quirúrgicos localizados a cortas distancias de la fuente de microorganismos. Dada la relación entre el número de personas y la presencia aérea de bacterias, un método para reducir la contaminación aérea sería el control del número de personas permitidas en el quirófano y su actividad, así como el cierre de las puertas del quirófano para controlar las salidas y las entradas, o limitación de los movimientos y conversaciones innecesarias en el quirófano. (12)

Lavado Prequirurgico. El lavado de manos quirúrgico pretende reducir el número de microorganismos de las manos del cirujano así como disminuir la contaminación del sitio operatorio a través de rupturas reconocidas o ignoradas en los guantes. Esto se logra utilizando preparados de soluciones antisépticas para el lavado de manos definidas por la FDA define como "preparado antimicrobiano no irritativo que reduce significativamente el número de microorganismos de la piel sana". La duración del lavado más ampliamente utilizada es de 10 minutos, aunque hay dos estudios microbiológicos que indican que un lavado quirúrgico de

manos durante 5 minutos es tan efectivo para eliminar la flora como el de 10 minutos. (12)

Dispositivos De Barrera. Estudios experimentales que utilizan partículas traza, sugieren que los microorganismos pueden ser desprendidos del pelo, piel expuesta y membranas mucosas del personal de quirófano y la flora del paciente contigua o distante al sitio quirúrgico puede lograr acceder al sitio quirúrgico a través de contacto indirecto. La utilización de mascarillas, gorros y batas por el personal del quirófano pretende reducir esta contaminación potencial desde el personal del quirófano.

A pesar de las razones teóricas consistentes basadas en estos estudios experimentales, no hay estudios clínicos que hayan probado que el uso de este tipo de métodos de barrera conduzca a reducir las tasas de infección del sitio quirúrgico. (12)

Mascarillas. La mayoría de los estudios realizados sobre mascarillas quirúrgicas son microbiológicos y con partículas marcadas. Sin embargo, Tunevall no encontró diferencias en el número de infección nosocomial entre pacientes intervenidos por cirujanos que llevaban mascarilla o que no la llevaban.

Asimismo, Orr no observó incremento de la tasa de infecciones cuando no se utilizaron mascarillas en un equipo durante seis meses. Estos estudios cuestionan la importancia de las mascarillas quirúrgicas como una medida de control. (13)

Lencería Quirúrgica. La efectividad de las batas como barrera para las bacterias y fluidos corporales se ve afectada por la composición y porosidad del material de que están hechas. Hay poca evidencia de la asociación entre el tipo de ropa utilizada por el equipo quirúrgico y la tasa de infección post operatoria. Parece claro que los microorganismos de la ropa y de la piel del equipo quirúrgico pueden traspasar rápidamente los materiales de las batas quirúrgicas, y más rápidamente cuando están húmedas. En las áreas de las batas de mayor contacto como las mangas y áreas abdominales, la presión mecánica por contacto puede facilitar la

penetración microbiana, lo que ha llevado al reforzamiento de estas áreas. Molan encontró unas tasas de infección más bajas cuando se utilizaban batas quirúrgicas hechas de material impermeable. (13)

Por tanto, la utilización de batas para prevenir la contaminación quirúrgica e infección es lógica, aunque su valor no haya sido probado en estudios clínicos. Al igual que ocurre con las mascarillas, uno de los papeles más importantes de las batas quirúrgicas sería la protección del equipo quirúrgico de la contaminación con sangre y otros fluidos. (13)

Gorros. La utilización de gorros es rutinaria en el quirófano, y si se emplean correctamente prevendrán la caída de pelo y escamas cutáneas dentro de los sitios quirúrgicos. Éstos sólo serán eficaces siempre que cubran todo el pelo de la cabeza y el vello facial.

Con la excepción de la descripción de unos pocos brotes donde se identificó al pelo como reservorio, hay escasas evidencias de que el pelo sea un reservorio importante para la contaminación del sitio quirúrgico o que los gorros sean eficaces para prevenir esta contaminación. (13)

Guantes. Los guantes fueron diseñados en un principio para proteger las manos del personal quirúrgico cuando se utilizaban antisépticos tóxicos. Ahora forman parte del ritual aséptico, aunque no está claro que el daño intraoperatorio en los guantes se relacione directamente con las infecciones post operatorias. Es lógico que en cirugía protésica la contaminación desde los guantes se considere importante y que deba ser evitada una ruptura de la técnica al ponerse los guantes o el daño intraoperatorio de los mismos. (13)

Puertas del quirófano. Las puertas del quirófano deben permanecer cerradas, excepto cuando es necesario el paso del paciente y del personal o suministros y equipos a su interior o viceversa. Las puertas abiertas interrumpe la mezcla de presurización en el interior (presión positiva), de aire limpio del quirófano con el del

corredor (presión negativa) de cuenta bacteriana más alta. Las puertas de los gabinetes deben permanecer cerradas. (13)

Tráfico y movimiento. El tráfico hacia adentro y hacia afuera del quirófano debe mantenerse al mínimo; solo debe permitírsele la entrada al equipo quirúrgico y al personal esencial y con autorización. Según aumenta el número de personas, también aumenta la cantidad de actividad en la sala, lo que a su vez incrementa el potencial de contaminación de difusión bacteriana y turbulencia de aire que acarrea bacterias a la herida. El movimiento en el quirófano debe reducirse al mínimo. (13)

Pelusa. Al agregar lubricantes textiles al enjuague con que concluye el lavado se reducen en grado sumo las pelusas que resultan del constante frote de telas tejidas entre si. El papel de las envolturas del material desechable es otra fuente de pelusa. Los productos de papel no se deben desechar junto al material sucio de reúso. (13)

CONTROL DE LOS SISTEMAS DE VENTILACIÓN

Los quirófanos modernos estandarizados están virtualmente libres de partículas mayores de 0,5 um cuando no hay personas en la estancia. La actividad del personal del quirófano es la principal fuente de bacterias aéreas que se originan principalmente de la piel de las personas presentes en la habitación. El número de bacterias dependerá del número de personas presentes, de su nivel de actividad y de su implicación con las prácticas del control de la infección. La limitación del número de personas en el quirófano, de la conversación excesiva y del número de veces que se abrían las puertas del quirófano se asoció con una disminución de la tasa de infección nosocomial en el paciente post quirúrgico. A pesar de estos conocimientos, el nivel de seguridad de bacterias aéreas para los diferentes procedimientos quirúrgicos no ha sido aún determinado. (14)

Disminuir la concentración de contaminantes en superficies, paredes, utensilios de limpieza, utensilios quirúrgicos: además prevenir los contaminantes aéreos no solo

en el propio procedimiento quirúrgico si no en el entorno, por lo que incluyen todos aquellos aspectos de higiene, condiciones de renovación, confort y medio ambiente relacionados con el bloque operatorio y unidades de aislamiento protector. Las medidas a aplicar están dirigidas a:

- **Suministro de aire filtrado:** Se incluye en este concepto todo lo referente al aire suministrado a las zonas de alto riesgo, (con aplicación especial en quirófanos) por medio de un equipo de climatización y sus características desde el punto de vista de calidad, renovación y ergonomía.
- **Toma de aire:** Siempre que sea posible, todo el aire que se suministre a quirófanos y anexos, será proveniente del exterior.
- **Renovaciones por hora:** La mayoría de los quirófanos convencionales están ventilados con 20 a 25 cambios por hora de aire filtrado emitido por flujo vertical.
- **Velocidad del aire:** No debe ser superior a 0,3 m/sg con objeto de que no existan turbulencias.
- **Filtración del aire:** Trata de purificar el aire exterior eliminando todo tipo de impurezas, el sistema de aire de partículas de alta eficacia (HEPA) filtra bacterias que miden de 0,5 a 5 μm y es utilizado para obtener aire limpio de bacterias en intervenciones donde se deben extremar las medidas de prevención, de acuerdo con los requisitos y niveles de filtración que previamente establezcamos.
- **Temperatura interior en quirófanos:** La temperatura será regulable en un rango de: 20 25 °C.
- **Humedad relativa:** Los valores de humedad relativa pueden oscilar entre 45 60% en invierno y 50 - 60% en verano. Mantener el adecuado porcentaje de humedad relativa en quirófanos es necesario no solo por motivos asistenciales (intercambio calórico etc.), si no también por la eliminación de cargas electrostáticas.
- **Presurización:** El quirófano está bajo presión positiva en relación a los pasillos circundantes para minimizar el flujo de aire dentro de la habitación.

- ***Funcionamiento del aire acondicionado:*** El aire acondicionado debe ponerse en funcionamiento, al menos dos horas antes del inicio de cualquier intervención y mantenerse durante toda la actividad quirúrgica, permaneciendo las puertas del quirófano cerrada. (14)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio es Exploratorio, debido a que se efectúa sobre un tema poco estudiado, por lo que sus resultados constituyen una visión aproximada de dicho objeto, es decir, un nivel superficial de conocimiento y Transversal por que la descripción se hace en un único momento temporal.

ÁREA DE ESTUDIO.

Hospital Regional Isidro Ayora.

LUGAR DE ESTUDIO.

Los Quirófanos del Hospital Regional Isidro Ayora.

MUESTRA

100 cultivos tomados del ambiente de los quirófanos (1,2 y 3) del centro quirúrgico del Hospital Regional Isidro Ayora, antes y después de cada cirugía.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión:

- Quirófanos que estén siendo utilizados u operativos
- Placas con crecimiento bacteriano colocadas en los quirófanos antes y después de las cirugías.

Criterios de exclusión:

- Quirófanos que no se encuentren habilitados.
- Tomar muestras del ambiente de otras áreas distintas a los quirófanos.

MÉTODOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS.

Dentro de **fase pre analítica** se hizo:

- Oficio dirigido al Sr. Dr. Jorge Guapulema, Director Asistencial del Hospital Regional Isidro Ayora, solicitando se me permita realizar un trabajo investigativo en esta entidad. **Anexo 1**
- Oficio dirigido al Sr. Dr. Vicente Factos, Jefe del centro quirúrgico del Hospital Regional Isidro Ayora, solicitando se me permita tomar muestras del ambiente, del lugar ya mencionado. **Anexo 2**
- Oficio dirigido al Sr. Dr. Jorge Reyes, Director del Área de la salud Humana, solicitando se me permita realizar el análisis de las muestras en el Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana. **Anexo 3**
- Preparación de medios de cultivo idóneos para el estudio. **Anexo 4**
- Recolección de muestras del ambiente de los quirófanos 1, 2 y 3. **Anexo 5**

Fase analítica:

- Incubación de las muestras recogidas, en el Laboratorio Clínico del Centro de diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana.
- Tinción de Gram, para identificar la morfología bacteriana. **Anexo 6**

Pruebas de identificación para Bacterias GRAM positivas

- Prueba de la Catalasa. **Anexo 7**
- Prueba de la Coagulasa. **Anexo 8**
- Prueba de la Novobiocina. **Anexo 9**
- Prueba de la Bacitracina. **Anexo 10**
- Prueba de la Optoquina. **Anexo 11**

Pruebas Bioquímicas para Bacterias GRAM negativas

- Prueba en medio T.S.I. **Anexo 12**
- Prueba en medio S.I.M. **Anexo 13**
- Prueba en el Agar Citrato de Simmons. **Anexo 14**
- Prueba de la Fenilalanina. **Anexo 15**

Fase post analítica:

- Registro interno de recolección de información
- Se realizó la tabulación de los datos obtenidos.
- Certificación procesamiento de muestras. **Anexo 16**
- Se realizó la entrega de los resultados al Jefe del Centro Quirúrgico del Hospital Regional Isidro Ayora. **Anexo 17**

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Utilizando las tablas y gráficos estadísticos, y apoyándose con el programa Microsoft Excel 2010, se realizó el análisis de los resultados obtenidos del estudio.

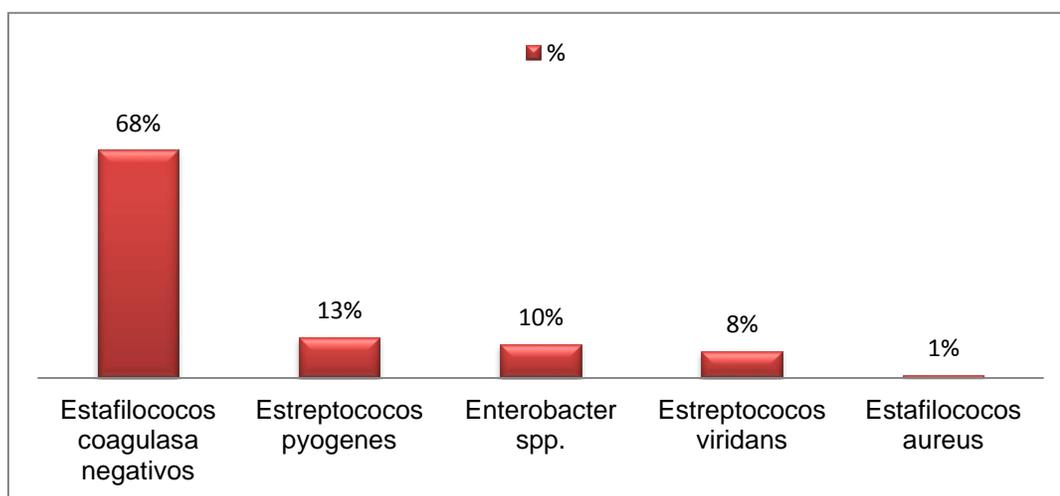
VI. RESULTADOS

TABLA Nº 1
BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DEL
CENTRO QUIRÚRGICO, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	59	68
<i>Streptococos pyogenes</i>	11	13
<i>Enterobacter spp.</i>	9	10
<i>Streptococos viridans</i>	7	8
<i>Estafilococos aureus</i>	1	1
Total	87	100

Fuente: Registros de muestras de cultivos.
Elaborado por: Torres Paredes F.

GRAFICO Nº 1
BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE
DEL CENTRO QUIRÚRGICO, 2013.



Fuente: Registros de muestras de cultivos.
Elaborado por: Torres Paredes F.

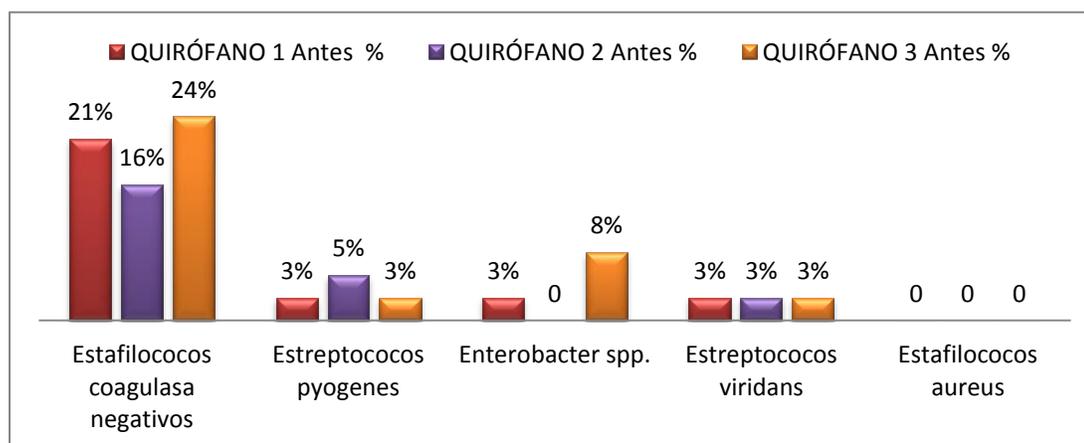
Interpretación: De 100 cultivos realizados en el ambiente del centro quirúrgico, se evidencia que el 68% corresponden a *Estafilococos coagulasa negativos* siendo el agente más predominante.

TABLA Nº 2
BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DE LOS QUIRÓFANOS
ANTES DE CIRUGÍA, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	QUIRÓFANO 1		QUIRÓFANO 2		QUIRÓFANO 3	
	Antes		Antes		Antes	
	f	%	f	%	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	8	21	6	16	9	24
<i>Streptococos pyogenes</i>	1	3	2	5	1	3
<i>Enterobacter spp.</i>	1	3	0	0	3	8
<i>Streptococos viridans</i>	1	3	1	3	1	3
<i>Estafilococos aureus</i>	0	0	0	0	0	0

Fuente: Registros de muestras de cultivos.
 Elaborado por: Torres Paredes F.

GRAFICO Nº 2
BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DE LOS QUIRÓFANOS
ANTES DE CIRUGÍA, 2013.



Fuente: Registros de muestras de cultivos.
 Elaborado por: Torres Paredes F.

Interpretación: Antes de cirugía, en el quirófano uno y tres se aisló *Estafilococos coagulasa negativos* con un 21% y un 24% respectivamente, siendo el quirófano dos el menos contaminado con un 16%.

TABLA Nº 3

**BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DE LOS QUIRÓFANOS
DESPUÉS DE CIRUGÍA, 2013.**

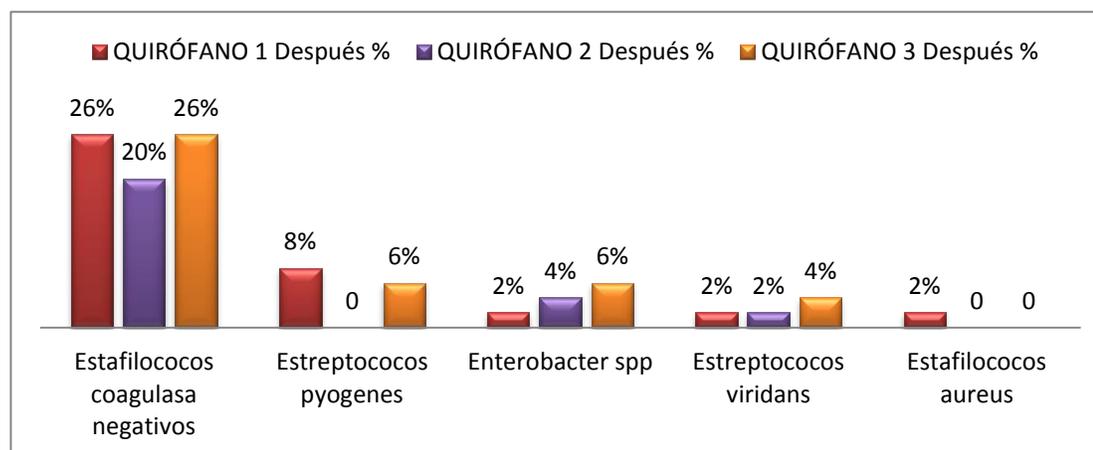
BACTERIAS IDENTIFICADAS	QUIRÓFANO 1		QUIRÓFANO 2		QUIRÓFANO 3	
	Después		Después		Después	
	f	%	f	%	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	13	26	10	20	13	26
<i>Streptococos pyogenes</i>	4	8	0	0	3	6
<i>Enterobacter spp.</i>	1	2	2	4	2	6
<i>Streptococos viridans</i>	1	2	1	2	2	4
<i>Estafilococos aureus</i>	1	2	0	0	0	0

Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

GRAFICO Nº 3

**BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DE LOS QUIRÓFANOS
DESPUÉS DE CIRUGÍA, 2013.**



Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

Interpretación: En los Quirófanos uno y tres, después de cirugía se evidencia un igual porcentaje de *Estafilococos coagulasa negativos* con un 26% respectivamente.

VII. DISCUSIÓN

La investigación denominada: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO - JUNIO DEL 2013, se la realizó con el afán de identificar los agentes bacterianos presentes en el ambiente del centro quirúrgico del Hospital Regional Isidro Ayora, con una muestra representativa de 100 cultivos, se realizó el análisis antes y después de una cirugía, encontrándose *Estafilococos coagulasa negativos* en un 68%, como el agente más predominante, *Streptococos pyogenes* con un 13%, *Enterobacter spp.*, en un 10%, *Streptococos viridans* con un 8%, y *Estafilococos aureus* con el 1%. Al realizar el estudio en los ambientes de los quirófanos, se aisló en el quirófano 1, antes de cirugía *Estafilococos coagulasa negativos* en un 21%, aislándose el mismo germen después de cirugía con un 26 %. En el quirófano 2 se identificó *Estafilococos coagulasa negativos* en un 26%, mientras que después de cirugía se encontró el mismo agente bacteriano en un 12%; En el ambiente del quirófano 3 se caracterizó a *Estafilococos coagulasa negativos* como los más predominantes con un 24%, teniendo en cuenta que este microorganismo se encuentra presente después de cirugía con el 26%. Por ende se puede evidenciar que después de una intervención quirúrgica existe mayor presencia de microorganismos, lo cuales pueden ser posible causa de una infección nosocomial.

En una investigación realizada en el Hospital de Basurto, Bilbao – Brasil, denominado: “Evolución de las Bacteriemias Nosocomiales Intrahospitalarias”, desarrollada por Busto C., Ezpeleta C., realizada en el año 2008 (15), se reportó *Estafilococos coagulasa negativos* en un 26.69% como agente predominante; *Estafilococos aureus* 5.4%, *Pseudomonas aeruginosa* 5.4%, *Enterococos spp.* 5%, *Acinetobacter baumannii* 0.93%. En comparación con el estudio antes mencionado tienen similitud a la investigación realizada, identificándose *Estafilococos coagulasa negativos* con un 68% como agente causal en mayor porcentaje, lo que se relaciona con la presencia de estos microorganismos en la mayoría de

quirófanos; los cuales pueden llegar a ser un factor predisponente para adquirir infecciones de este tipo.

En un estudio realizado en el Hospital Alcívar de la Ciudad de Guayaquil (16), se reportó *Klebsiella pneumoniae* 50%, *Estafilococos aureus* 33%, *Acinetobacter baumannii* 17%, *Pseudomona aeruginosa* 15%, y *Enterococos faecium* 10%. El estudio mencionado guarda relación con el realizado en la ciudad de Guayaquil, caracterizándose a *Estafilococos aureus* con el 1%; dando a entender que el agente bacteriano se encuentra presente en ambos estudios pero en diferentes porcentajes, destacando que este microorganismo es posible causante de infecciones nosocomiales.

En una publicación realizada por el Hospital Universitario Clínico Quirúrgico Dr. Miguel Enríquez De Cuba, 2013, (17) se encontró que el germen más predominante fue *Pseudomona aeruginosa* con un 22%, *Estafilococos aureus* 21%, *Acinetobacter baumannii* 15% y *Estafilococos coagulasa negativos* con un 14%. Lo que contrasta con el estudio realizado en donde se aisló *Estafilococos aureus* con el 1%; de igual manera hay relación con el agente encontrado *Estafilococos coagulasa negativos* con un 68%; acotando que en el estudio realizado en Cuba, se aprecia un gran predominio de bacterias gramnegativas, mientras que en la localidad los agentes grampositivos presentan un mayor porcentaje, esto puede deberse por la diferente población y número de pacientes que acuden hasta esta casa de salud. Teniendo en cuenta que algunos gérmenes pueden ser transmitidos por visitantes, o por el propio personal de servicio que brinda la atención sanitaria.

Los resultados obtenidos de este trabajo de investigación fueron entregados y puestos a consideración del encargado de centro quirúrgico, para que ejecute medidas que permitan controlar y disminuir la presencia de bacterias en el ambiente de este departamento.

En este trabajo investigativo se ha logrado identificar a los *Estafilococos coagulasa negativos* en un 68%, como los principales contaminantes de los

ambientes de los quirófanos. Sin embargo, el motivo que hace que prevalezcan tales bacterias en el ambiente de los quirófanos; guarda relación muy estrecha con la cultura sanitaria del hospital y su personal; debido a que no aplican las correctas normas de Bioseguridad y principalmente a que el área es muy pequeña en relación a la cantidad de personal que allí transita. Por lo tanto se podría decir que la presencia de microorganismos en dichos ambientes puede ser factor predisponente para que los pacientes post quirúrgicos adquieran una infección derivada de *Estafilococos coagulasa negativos*.

En esta investigación se realizaron todos los procedimientos de identificación de *Estafilococos epidermidis* y *Estafilococos saprophyticus*, pero en la actualidad según las normativas taxonómicas de las bacterias, se los agrupa como Coagulasa negativos (dentro de su estructura carecen de la enzima coagulasa), factor que permite diferenciarlos de aquellos microorganismos que reaccionan positiva ante la prueba de la coagulasa, denominándolos *Estafilococos coagulasa negativos*.

VIII. CONCLUSIONES

- Al realizar todos los procedimientos de identificación se caracterizó; *Estafilococos coagulasa negativos* en un 68%, *Streptococos pyogenes* con un 13%, *Enterobacter spp.* con un 10%, *Streptococos viridans* con un 8%, y *Estafilococos aureus* con el 1%. Al identificar los agentes bacterianos quirófano por quirófano se evidencia que existe una gran prevalencia de *Estafilococos coagulasa negativos*, tanto antes de cirugía como después de cirugía en los ambientes de los quirófanos del centro quirúrgico, lo que se convierte en un posible factor en causar infecciones nosocomiales.
- Los resultados obtenidos del trabajo de investigación fueron entregados y puestos a consideración del encargado del centro quirúrgico, para que ejecute medidas; en como disminuir la presencia de bacterias en el ambiente de este departamento.

IX. RECOMENDACIONES

Una vez concluido este trabajo de investigación se recomienda:

- Que la Universidad Nacional de Loja mediante su carrera de Laboratorio Clínico continúe realizando estudios similares a este, en donde identifiquen bacterias en los fómites de áreas críticas de los hospitales, con el afán de prevenir y obtener datos estadísticos actualizados y reales.
- Se recomienda al personal Docente de la carrera de Laboratorio Clínico realizar cursos en cuanto a las enfermedades nosocomiales y que ellos sean quienes impartan dichos conocimientos obtenidos a sus estudiantes, con el fin de contribuir a la formación de entes participativos que fomenten ideas en cuanto a la prevención de las infecciones nosocomiales.
- Con el auge de las nuevas tecnologías en la rama de la microbiología, sería preciso realizar la identificación bacteriana con técnicas más específicas y sensibles, como lo es a través de Reacción en cadena de la Polimerasa; y prevenir la obtención de falsos positivos.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. La OMS presenta la iniciativa mundial en pro de la seguridad del paciente y publica unas directrices sobre higiene de las manos en la atención sanitaria; (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/pr50/es/>). 2013.
2. Moreno, E. Revista De Calidad Ambiental Interior En Hospitales Y Salas De Ambiente Controlado, Biotecnología hospitalaria, 5 (1): Págs. 21 – 29. 2011
3. Organización Mundial de la Salud. Guía Práctica de Prevención de las infecciones nosocomiales, 2 (1): 3 – 6. 2009.
4. Maldonado, J. Salazar, R. Arizaga, Y. Erazo, M: Pesquisa de infecciones nosocomiales en tres servicios del Hospital “Carlos Andrade Marín”; 1, (2): 1-2. 2009.
5. El Mercurio, Cuenca-Ecuador. Infecciones Nosocomiales. (<http://www.elmercurio.com.ec/272667-infecciones-nosocomiales.html>). 2011.
6. Revista de Enfermería Integral; Infección en cirugía. Aspectos relacionados con enfermería quirúrgica; 1 (1); Págs. 1-3. 2008.
7. Revista Esteripharma; Factores predictores de infección nosocomial en el ictus agudo. Influencia de la infección en la morbimortalidad. Servei Publicacions, 1 (1): 10, 2008. Encontrado en Línea: (http://www.esteripharma.com/Pdf_View.php?Concepto=42&Archivo=infecciones%20nosocomiales.pdf).
8. León, C. Ariza, J. Guías para el tratamiento de las infecciones relacionadas con catéteres intravasculares: conferencia de consenso SEIMC-SEMICYUC, 1 (1): 5-27. 12 de octubre del 2012. ([http://www.amepreventiva.es/docinteres/Consenso_seimc_semicyuc_bact RelCat.pdf](http://www.amepreventiva.es/docinteres/Consenso_seimc_semicyuc_bact_RelCat.pdf)).
9. Winn, Allen, Koneman. Diagnostico Microbiológico, Texto y Atlas a color. 7ª Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2008. Págs. 10-44, 186-190, 204-220, 593-601, 639-645.
10. Murray, P. Microbiología médica, Quinta Edición, España; Elsevier; 2008; Págs. 7-25, 213-237.

11. Barros, A. Protocolos para la prevención de Infecciones Nosocomiales (<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap42.asp>)” 2012.
12. Baquedano, C. Control microbiológico ambiental. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1 (1): 2 - 3. 2012.
13. Berry, K. Técnicas de Quirófano, 7ma Edición. España. Editorial MASSON. 2008. Págs. 109-155.
14. Núñez Freile, B. Realpe López, G. El control de la infección hospitalaria: un camino hacia la excelencia en la prestación sanitaria; 2, (4): 210-215. 2009
15. Monge, V. Contaminación Ambiental En Zonas De Riesgo Hospitalario” (<http://www.aeih.org/CentroDocumental/Revistas/contaminacion-ambiental-zonas-riesgos.asp>), 12 de Octubre del 2012.
16. Alemán, W. Cevallos Espinar, S. Infecciones Hospitalarias en el Hospital Alcívar, 1 (1): Págs. 5-10. 2013. (<http://hospitalalcivar.com/uploads/pdf/Infecciones%20Hospitalarias%20en%20UCI%20no%2021%20vol%201.pdf>).
17. Gallardo, U. Rubio, Y. García, A; Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular. Vigilancia de las infecciones de heridas quirúrgicas. Ruano. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc* 2008; 4 (http://www.bvs.sld.cu/revistas/ang/vol4_1_03/ang03103.htm)
18. Vilar, D. Compte, M. Sandoval, S. Gordillo, P. Vigilancia de las infecciones de herida quirúrgica. Experiencia de 18 meses en el Instituto Nacional de Cancerología, salud pública de México / vol.4. pág. 46). 2012
19. Winn, Allen, Koneman. *Diagnostico Microbiológico, Texto y Atlas a color*. 6ª Edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2008. Págs. 10-44 / 186 - 190.
20. Gamazo, C. López, I. Goñi, R. *Manual Práctico De Microbiología*. 3ª edición. España. Editorial MASSON. 2008. pág. 7 - 52.
21. Lennette, E. Balows, A. Hausler, W. Shadomy, J. *Manual De Microbiología Clínica*. 10ª edición. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2008. pág. 1283-1350.

22. Gerard J. Tortora. Berdell R. Funke. Christine L. Case. Introducción A La Microbiología. 10ª Edición. España. Editorial Médica Panamericana. 2008. págs. 4 – 13.
23. Prats, G. Microbiología Clínica. 2ª Edición. España. Editorial Médica Panamericana. 2008. págs. 33-68.

XI. ANEXOS

INDICE DE ANEXÓS

Anexo 1

Oficio dirigido al Sr. Dr. JORGE GUAPULEMA, Director del HRIA.

Anexo 2

Oficio dirigido al Sr. Dr. Vicente Factos, Jefe del centro quirúrgico.

Anexo 3

Oficio dirigido al Sr. Dr. Jorge Reyes, Director del Área de la salud Humana.

Anexo 4

Preparación de medios de cultivo idóneos para el estudio.

Anexo 5

Recolección de muestras del ambiente de los quirófanos 1, 2 y 3.

Anexo 6

Tinción de Gram, para identificar la morfología bacteriana.

Anexo 7

Prueba de la Catalasa.

Anexo 8

Prueba de la Coagulasa.

Anexo 9

Prueba de la Novobiocina.

Anexo 10

Prueba de la Bacitracina.

Anexo 11

Prueba de la Optoquina.

Anexo 12

Prueba en medio TSI.

Anexo 13

Prueba en medio SIM.

Anexo 14

Prueba en el Agar Citrato de Simmons.

Anexo 15

Prueba de la Fenilalanina.

Anexo 16

Certificación procesamiento de muestras.

Anexo 17

Oficio de entrega de resultados.

Anexo 18

Fotografías del estudio.

Anexo 1

Loja, 12 de Diciembre del 2012

Dr.

Jorge Guapulema Ocampo

DIRECTOR ASISTENCIAL DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO CUEVA DE AYORA

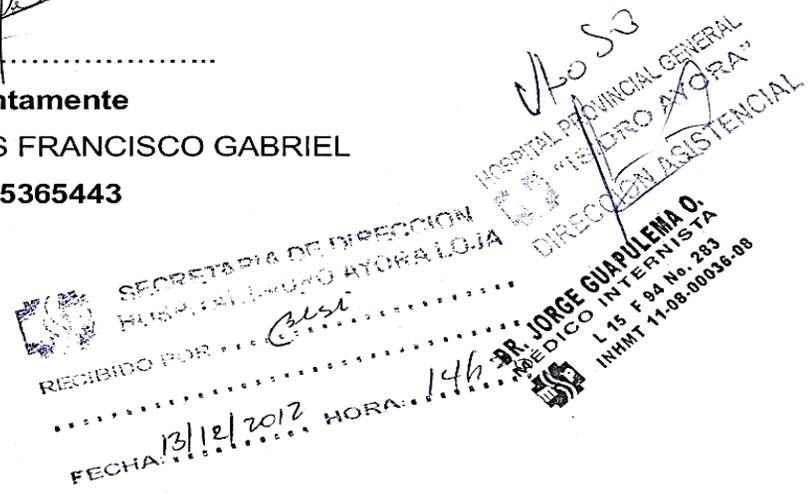
De mis consideraciones:

Yo TORRES PAREDES FRANCISCO GABRIEL, con cédula de identidad 0705365443, egresado de la Carrera De Laboratorio Clínico, solicito a usted se me conceda permiso para desarrollar el proyecto de tesis **"IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO NOVIEMBRE 2012 – ABRIL 2013"**, con el afán de contribuir con datos reveladores y serios, creo oportuno realizar esta temática en esta institución de salud y identificar a los microorganismos que predisponen a que se presentes este tipo de afecciones.

Esperando la aceptación a esta solicitud anticipo mis más sinceros agradecimientos.


.....
Atentamente

TORRES PAREDES FRANCISCO GABRIEL
0705365443


SECRETARIA DE DIRECCION
HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL
'ISIDRO AYORA'
DIRECCION ASISTENCIAL
RECIBIDO POR
FECHA: 13/12/2012 HORA: 14h
DR. JORGE GUAPULEMA O.
MEDICO INTERNISTA
L 15 F 94 No. 283
INHMT 11-08-00038-08

Anexo 2

Loja, 31 de octubre del 2012

SR. DOCTOR

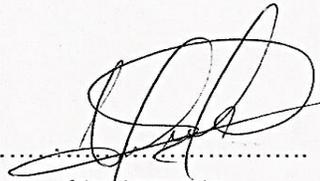
VICENTE FACTOS

Jefe Del Centro Quirúrgico Hospital Regional Isidro Cueva De Ayora

De mis consideraciones:

Haciéndole llegar un cordial saludo, Yo TORRES PAREDES FRANCISCO GABRIEL, con cédula de identidad 0705365443, egresado de la CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO, solicito a usted se me conceda permiso para desarrollar el proyecto de tesis **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS EN EL QUIRÓFANO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO OCTUBRE 2012 - MARZO DEL 2013"**. Aplicando procedimientos que consistirán en recolectar muestras de cualquier fómite o vehículo del lugar ya mencionado, con el afán de contribuir con datos significativos y reales, creo oportuno realizar esta temática en esta institución de salud y identificar al responsable de provocar posibles infecciones nosocomiales a pacientes intervenidos.

Esperando la aceptación a esta solicitud anticipo mis más sinceros agradecimientos.



Atentamente

TORRES PAREDES FRANCISCO GABRIEL
0705365443

Rec.
15 h 30
31-10-2012
Vicente Factos

Anexo 3



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA AREA DE LA SALUD HUMANA SECRETARIA GENERAL

MEMORANDUM N° 446 SG.ASH.UNL

Loja, 26 de febrero de 2013

PARA: Coordinación de Laboratorios ASH

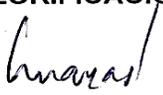
DE: Dr. Jorge Reyes Jaramillo.- Director del Área de la Salud Humana (e)

ASUNTO: Autorizo el préstamo de las instalaciones para que se lleve a cabo el desarrollo de la tesis de autoría de FRANCISCO GABRIEL TORRES PAREDES

Con la finalidad de atender el pedido presentado por Francisco Gabriel Torres Paredes, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico, quien solicita "...se le permita realizar el análisis de las muestras, con el 50% de descuento en las pruebas del área de microbiología..."; conocidos los informes emitidos por la Representación el Nivel de Grado, la Responsable del Centro de Diagnóstico Médico y la Secretaria Abogada del Área, declaro de interés institucional el pedido efectuado por el Sr. Francisco Torres Paredes; y, acogiendo lo establecido en el Art. 148 del Reglamento de Régimen Académico y la autorización dada en el Referéndum de 15 de febrero de 2012 en vigencia desde el 22 del mismo mes y año; autorizo este pedido, condicionado al estricto cumplimiento de lo indicado por el o la responsable de los Laboratorios, bajo quien queda esta responsabilidad.

Particular que pongo a su consideración, salvando desde luego su más ilustrado criterio.

Atentamente,
**EN LOS TESOROS DE LA SABIDUIA
ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA**


Dr. Jorge Reyes Jaramillo Mg. Sc.
**DIRECTOR DEL AREA DE
LA SALUD HUMAN (e)**



EPS/
C.C. Sr. Francisco Torres Paredes
Archivo

Anexo 4

Elección y Preparación Del Lote De Medios De Cultivo

MEDIOS DE CULTIVO.

El **medio de cultivo** es la mezcla de sustancias, naturales, sintéticas o ambas, que permite el crecimiento y la reproducción de microorganismos o bien que permite mantener su viabilidad.

CLASIFICACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS

■ Según su origen:

Naturales. Son aquellos que están constituidos por productos de origen animal o vegetal: gelatina, leche, huevos, suero, patatas, levadura etc. Ejemplo: agar sangre

Sintéticos. Son soluciones de cuerpos puros químicamente definidos, disueltos en agua destilada.

Semi-sintéticos. Que contienen sustancias químicas de naturaleza y proporciones conocidas, junto a productos de origen natural actualmente son los medios de cultivo más utilizados.

■ Según su consistencia:

Líquidos. También se llaman caldos de cultivos, no contienen agar y se preparan en matraces pequeños. Caldo de tioglicolato.

Sólidos. Contienen de 1.5 a 2% de agar y se preparan en cajas Petri o en tubos de ensayo Ejemplo: Agar base.

Semisólidos. Contienen 0.5% de agar y se preparan en matraces pequeños.

■ Por su composición:

Medios comunes o universales

Los medios usuales contienen las sustancias nutritivas mínimas para el crecimiento de las bacterias metabólicamente no exigentes como el colibacilo o los estafilococos que por lo general contienen extracto de carne, agar (medio sólido), peptonas, extracto de levadura y glucosa con lo que se consigue que tenga un valor mayor de nutrientes Ej. Agar sangre. (19)

Medios de cultivo selectivos

Cuando una mezcla bacteriana interesa aislar específicamente un solo tipo de bacteria que está en escasa cantidad, es recomendable utilizar medios de cultivos selectivos. Este medio permite el crecimiento esa bacteria requerida inhibiendo el resto de las existentes en la muestra generalmente estos contienen cloruro sódico a concentración elevada, citrato sódico, cristal violeta, sales biliares, diversos antibióticos y antisépticos que inhiben a un grupo de bacterias sin afectar a otras. Ej. Agar chapman. (19)

CONSTITUCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Fuente de carbono y sales.- En muchos casos, la glucosa, la lactosa u otras dextrosas se emplean como fuente de carbono. Algunos medios de cultivo se complementan con sales como NaCl o diversos fosfatos y/o sulfatos de potasio, magnesio, amonio.

Agar.- El agar se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo. El componente dominante en el agar bacteriológico es un polisacárido, al que acompañan algunas impurezas, que se obtiene de ciertas algas marinas (rodófitos).

Extractos.- Para su preparación, ciertos órganos o tejidos de animales o vegetales por ejemplo carne, cerebro, semillas) son extraídos con agua y calor, y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo. Estos preparados deshidratados se emplean con frecuencia en la confección de medios

de cultivo. Son una fuente rica de alimentos, vitaminas y diversos factores de crecimiento. Ejemplos: extracto de carne, de levadura, de malta, etc.

Peptonas.- Son mezclas complejas de compuestos orgánicos nitrogenados y sales minerales que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (soja, carne, gelatina, caseína).

Fluidos corporales.- Sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo son frecuentemente añadidos a los medios empleados para cultivo de algunos patógenos. La sangre no puede esterilizarse y debe, por lo tanto obtenerse en condiciones asépticas directamente de un animal sano. Los fluidos corporales no solo contribuyen con factores de crecimiento, sino también con sustancias que neutralizan inhibidores del crecimiento de algunas bacterias.

Indicadores de pH.- Indicadores acido-base se añaden a menudo a los medios de cultivo para detectar variaciones del pH.

Agentes reductores.- Cisteína, tioglicolato y otros agentes reductores que se añaden a los medios de cultivo para crear condiciones que permitan el desarrollo de microorganismos microaerófilos o anaerobios.

Agentes selectivos.- La adición de determinadas sustancias al medio de cultivo puede convertirlo en selectivo. Por ejemplo, cristal violeta, sales biliares, azida sódica, telurito potásico, antibióticos. (20)

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Dado que los microorganismos son ubicuos (los podemos detectar prácticamente en cualquier hábitat), los medios de cultivo deben ser esterilizados antes de su empleo. La preparación de un medio de cultivo consiste simplemente en pesar la cantidad deseada del mismo y disolverla en agua desionizada libre de inhibidores del crecimiento, siguiendo las instrucciones del fabricante.

- Leer cuidadosamente las instrucciones de preparación del medio de cultivo asignado.
- Pesar la cantidad exacta del medio deshidratado.
- Disolver la porción pesada de acuerdo con las indicaciones del fabricante.
- Si es necesario calentar se debe tener cuidado de no hacer hervir.
- Ajustar el pH final de cada lote de medio preparado, preferiblemente a temperatura ambiente (25°C).
- Distribuir el medio de cultivo de acuerdo a las indicaciones señaladas
- Identificar el lote de medio de cultivo preparado indicando su nombre, distribución y fecha de preparación.
- Esterilizar de inmediato el medio de cultivo.
- Los medios líquidos y sólidos pueden conservarse, una vez esterilizados, a temperatura ambiente. Sin embargo, para reducir su deshidratación y el consiguiente cambio de las concentraciones de los componentes es preferible consérvalos a 4°C. (21)

AGAR BASE SANGRE

Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemólisis. También, este medio de cultivo, puede utilizarse como medio base para preparar el medio agar chocolate. (22)

Fundamento

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

El agregado de sangre al medio de cultivo, en concentración final de 5-10 %, aporta nutrientes para el crecimiento bacteriano, y permite detectar hemólisis. (23)

Instrucciones

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

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

Siembra

En superficie, por estriado a partir de un inóculo poco denso, para obtener colonias aisladas.

Incubación

El tiempo, temperatura y atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera aislar. Incubar a 37°C por 48 horas. (21)

Interpretación de resultados

Agente	Crecimiento	Hemolisis
<i>Escherichia coli</i>	Abundantes	--
<i>S. aureus</i>	Abundantes	Beta
<i>S. pyogenes</i>	Abundantes	Beta
<i>S. pneumoniae</i>	Abundantes	Alfa

AGAR McCONKEY

Especificación

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo. (22)

Instrucciones Para La Reconstitución

Añadir 52,5 g. de polvo a un litro de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121° C.

Fundamento

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

Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares. Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras. (22)

Siembra

En superficie, por estriado a partir de un inóculo poco denso, para obtener colonias aisladas.

Incubación

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

Resultados

Agente	Características de las colonias
<i>Escherichia coli</i>	Rojos, halo turbio
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Rosadas mucosas
<i>Salmonella typhimurium</i>	Incoloras, transparentes
<i>Shigella flexneri</i>	Incoloras, transparentes
<i>Proteus mirabilis</i>	Incoloras, transparentes
<i>Enterococcus faecalis</i>	Diminutas, incoloras, opacas

AGAR EMB

Este medio (también denominado E.A.M.) es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae. (22)

Fundamento

Este medio combina las fórmulas de Holt-Harris y Teague con la de Levine, para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas.

Muchas cepas de *Escherichia coli* y *Citrobacter spp.*, presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras. *Enterococcus spp.* crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, mientras que *Acinetobacter spp.* y otras bacterias oxidativas pueden dar colonias de color azul lavanda; esto puede ocurrir aunque las cepas no sean capaces de acidificar a

partir de lactosa al 0.5% y ello se debe a la incorporación de azul de metileno a sus membranas. En este medio se obtiene además, un buen desarrollo de especies de *Salmonella* y *Shigella*. (22)

Siembra: En superficie, por estriado a partir de un inóculo poco denso, para obtener colonias aisladas.

Incubación:

De 24 a 48 horas a 35-37 °C, en aerobiosis.

Interpretación de Resultados

Agente	Características de las colonias
<i>Escherichia coli</i>	brillo metálico, y centro de color negro azulado
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Mucosas, rosa purpura, confluentes
<i>Proteus mirabilis</i>	Incoloras
<i>Enterococcus faecalis</i>	Incoloras, pequeñas , puntiformes
<i>Salmonella typhimuriun</i>	incoloras

Anexo 5

Protocolo Para La Recolección De Muestras Del Ambiente De Los Quirófanos

1. Se realizará la elección de los medios de cultivo idóneos para el estudio del ambiente.
2. Preparación del lote de medios de cultivo, utilizando protocolos estandarizados de preparación.
3. Se ingresará al quirófano cumpliendo con estrictas normas de bioseguridad utilizando bata, mangas plásticas, gorro, guantes, mascarilla, para evitar la contaminación en el lugar ya mencionado.
4. Se garantizará que los utensilios que ingreso al lugar (medios de cultivo, esferográficos, lápiz graso), se encuentren estériles para no convertirme en el vehículo para que exista contaminación en el lugar.
5. Etiquetar de manera sistemática los medios de cultivo para evitar confusiones en el momento del análisis.
6. Se tomara dos muestras, una antes de la intervención y otra después de la intervención quirúrgica, por el transcurso de un mes y medio.
7. Se expondrá los medios de cultivo por duplicado en el ambiente del quirófano, por un periodo de 10 minutos, en el ambiente de los quirófanos, sobre mesones, camillas, pasillos. Una vez tomada la muestras, estas deben transportarse hasta el laboratorio, en donde se procederá a incubar y continuar con los procedimientos de identificación bacteriana. (16)

Anexo 6

Protocolo Para La Coloración De Gram

Fijar un frotis:

1. Con la ayuda de un mechero, flamear un asa bacteriológica y esperar que enfríe un poco.
2. Tomar el asa (previamente flameada) y con ésta tomar un poco de muestra.
3. Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra (con el asa), hacer que ésta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.
4. Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios sobre la lámina, de tal forma que al terminar la extensión, tengamos como producto una espiral en la parte media de la lámina.
5. Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar. (19)

Reactivos:

- Violeta De Cristal.
- Lugol.
- Alcohol Acetona.
- Safranina.

Tinción: Con violeta cristal utilizando una cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 1 minuto. Esta tinción de 1 minuto está dada para trabajar a una temperatura ambiente de 25 °C. (19)

Enjuague: Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua no debe caer directamente sobre la muestra, ésta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. (19)

Lugol: Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente yodo o lugol durante 1 minuto más. El mordiente es cualquier sustancia que forme compuestos insolubles con colorantes y determine su fijación a las bacterias. (19)

Decoloración: Alcohol – Acetona: Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con acetona o alcohol-acetona, hasta que ya no escurra más líquido azul. Para esto se utiliza el gotero del frasco del decolorante. Se van añadiendo cantidades suficientes del decolorante, hasta lograr que éste salga totalmente transparente, es decir, hasta que ya no escurra más líquido azul. (19)

Lavado: Lavar con agua para quitar los residuos de decolorante

Tinción De Contraste: Safranina O Fushina: Una vez que la lámina lavada, procedemos a teñir nuevamente, pero esta vez se va a utilizar un colorante de contraste como por ejemplo la safranina, dejar actuar durante 1 minuto o va ser dependiendo de la concentración de la solución preparada. En algún caso puede ser 30 segundos. (19)

Nuevo enjuague: Pasado el minuto correspondiente, se procede a enjuagar la lámina con agua, se escurre el agua sobrante y se seca en la forma anteriormente descrita. De esta manera, ya tendremos listo el frotis para su respectiva observación microscópica. (19)

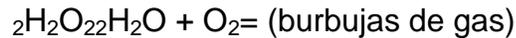
Anexo 7

Prueba De La Catalasa

Principio

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno, químicamente es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina salvo por que los cuatro átomos de hierro de su molécula están en estado oxidado Fe₃ en lugar de estado reducido Fe₂. Excepto los estreptococos, la mayoría de las bacterias aerobias y anerobias facultativas tiene actividad catalasa.

El peróxido de hidrogeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule, resulta letal para las células bacterianas. La catalasa convierte el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno según la siguiente reacción:



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

Reactivos:

1. Peróxido de hidrogeno al 3% almacenado en frascos de color caramelo, en frio
2. Un cultivo de 18 a 24 horas del microorganismo por probar.

Procedimiento: se coloca una gota de H₂O₂ al 3% sobre un portaobjetos y luego se transfiere una porción de colonia sobre el H₂O₂ realizándose una emulsión. En lo posible debe tomarse la colonia a partir de un medio sin sangre, ya que los eritrocitos tienen actividad de catalasa y pueden falsear los resultados. Esta prueba también puede realizarse a partir de un cultivo en tubo, simplemente colocando unas gotas de H₂O₂ dentro del mismo. (19)

Interpretación de resultados: el desprendimiento de burbujas se considera una prueba positiva.

Anexo 8

Prueba De La Coagulasa En Porta Objetos

Principio:

La coagulasa es una proteína de composición química desconocida, que tiene actividad similar a la protrombina capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina. Como resultado se forma un coágulo visible. Se piensa que *in vivo* la coagulasa produce una barrera de fibrina en el sitio de la infección estafilocócica. Esta enzima probablemente desempeña cierto papel en el confinamiento local de abscesos. En el laboratorio la prueba de coagulasa se utiliza para identificar *Estafilococo aureus* y diferenciarlo de la mayoría de las otras especies de estafilococos.

La coagulasa existe en dos formas. Libre y unida; cada una tiene diferentes propiedades que requieren el uso de distintos procedimientos de ensayo.

Coagulasa unida (prueba en porta objetos): la coagulasa ligada (unida) también conocida como factor de aglutinación, se encuentra unida a la pared celular bacteriana y no en los filtrados de cultivos. Entre las células bacterianas se forman bandas de fibrina cuando se suspenden en plasma (fibrinógeno) que hacen que las bacterias se agrupen formando grumos visibles.

Coagulasa libre (prueba en tubo): la coagulasa libre es una sustancia similar a la trombina presente en filtrados de cultivo. Cuando en un tubo de ensayo se prepara una suspensión en plasma de microorganismos productores de la coagulasa, se forma un coágulo visible como resultado de la reacción de la coagulasa con una sustancia del suero (factor de reacción de la coagulasa) para formar un complejo que a su vez reacciona con el fibrinógeno para producir un coágulo e fibrina.

Reactivos necesarios: Plasma fresco humano. Aunque es preferible el uso de los productos comerciales: Difco-Plasma para Coagulasa-Bacto- 0286 y el plasma

coagulasa, de conejo (BBL) .Estos deben ser reconstituidos antes de usarse y la forma liofilizada guardarse en refrigeración.

Procedimiento:

Hay 2 procedimientos uno que se lo realiza en la lámina portaobjetos y en el tubo de ensayo.

Procedimiento en lámina portaobjetos:

1. Poner una gota de agua o de solución salina esterilizada sobre el portaobjetos.
2. Tomar unas colonias del cultivo de prueba y emulsionarlas suavemente con la gota de agua o de solución salina. Luego poner a lado una gota de plasma humano fresco y mezclar todo hasta obtener una solución homogénea.
3. Realizar movimientos de vaivén y circulares rotando la lámina y observar la formación de un precipitado granular con grumos blancos.
4. La granulación se produce en un tiempo de 5-10 segundos. Una aglutinación demorada no indica una prueba positiva.

Interpretación de la prueba:

La presencia de la coagulación macroscópica de 10-20 segundos, indica una prueba positiva. La prueba se considera negativa si no hay aglutinación en 2 a 3 minutos. El uso del plasma humano citratado puede producir una reacción falsa negativa.

Las láminas portaobjetos que dan una reacción positiva deben ser teñidas con una solución de Gram para verificar la presencia de estafilococos grampositivos, esto constituye un control de calidad de la prueba.

Procedimiento en tubo de ensayo:

1. Poner en un tubo de ensayo estéril 0.5ml de plasma

2. Agregar al tubo 0.5ml del caldo que contiene el cultivo que se desea probar, o en su lugar usar colonias de un crecimiento sobre agar, extrayendo con un asa bacteriológica.
3. Mezclar suavemente el tubo, evitando el sacudimiento de la muestra.
4. Poner el tubo a baño María a 37°C, taponando el tubo para evitar la evaporación del contenido y observar si hay formación de coágulo visible dentro del tubo de ensayo.

Interpretación de los resultados:

La prueba de coagulación en tubo es positiva solamente cuando se ha formado un coágulo dentro del período esperado. Si no hay formación del coágulo la prueba es negativa. (21)

Anexo 9

Susceptibilidad A La Novobiocina

Objetivo: Separar *S. saprophyticus* (resistente a la novobiocina) de los demás estafilococos coagulasa negativos.

Fundamento: Varias especies del género *Staphylococcus* son resistentes a la novobiocina (disco de 5 µg.) dentro de las cuales se encuentra *S. saprophyticus*.

Procedimiento: Se siembra una placa de agar sangre o agar Mueller-Hinton como si se fuera a realizar un antibiograma. Se utiliza un hisopo embebido en una suspensión, con una turbidez equivalente a un Mc Farland 0,5, de la cepa a estudiar. Luego se aplica el disco de novobiocina y se incuba a 35 ° C por 18 horas.

Interpretación de resultados: Un halo de inhibición de crecimiento menor o igual a 16mm corresponde a *S. saprophyticus*. Un halo de inhibición mayor de 16 mm corresponde a otros *Estafilococos coagulasa negativos*. (19)

Anexo 10

Sensibilidad a La Bacitracina

Objetivo: Separar el *Streptococo pyogenes* de los demás Streptococos Beta Hemolíticos.

Fundamento: *Streptococo pyogenes* es sensible a bajas concentraciones de Bacitracina (discos conteniendo 0,04U). También existe un 5% de cepas de *Streptococo agalactiae* que son sensibles a la Bacitracina.

Procedimiento: Se realiza sembrando un gran inóculo, tomado con asa bacteriológica de un cultivo puro, que se estría sobre una placa de agar sangre en varias direcciones intentando obtener un cultivo confluyente. Luego se coloca el disco de Bacitracina y se incuba 18- 24 horas a 37°.

Interpretación de resultados: La aparición de cualquier diámetro de halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera prueba positiva. (20)

Anexo 11

Prueba De Sensibilidad A La Optoquina

El clorhidrato de etilhidroxicupreina (optoquina) inhibe a muy baja concentración el crecimiento del *S. pneumoniae*, mientras que no afecta a otros Streptococcus alfa hemolíticos.

- Sensible => a 15mm
- Resistente <a 15mm

Procedimiento:

1. Sembrar en una placa de agar sangre una suspensión del Streptococcus problema.
2. Dejamos reposar a temperatura ambiente por 10 min y colocar el disco de optoquina.
3. Incubar a 37° C por 24 horas, con una atmosfera de CO₂. (21)

Anexo 12

Agar Triple Azúcar Hierro (TSI)

Fundamento: Sirve para detectar la fermentación de hidratos de carbono. El medio contiene: glucosa al 0.1%, lactosa 1%, sacarosa al 1% y peptonas; también tiene un indicador rojo de fenol y sulfato de hierro para evidenciar la formación de SH_2 .

Interpretación:

- **Fermentación de la glucosa (alcalino/ácido K/A)**

Primero los microorganismos empiezan a fermentar la glucosa, produciendo ácidos y virando totalmente el medio a color amarillo. Como solamente utilizan la glucosa, no pueden usar la sacarosa ni la lactosa, cuando la glucosa que se halla en baja concentración se consume (antes de las 24hs) los microorganismos comienza a utilizar la peptona con producción de amoníaco que alcaliniza el medio dando un color rojo, pero solamente en el pico, quedando el fondo ácido.

- ✿ **Fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa (ácido/ácido A/A)**

Como la lactosa y sacarosa están en una proporción 10 veces mayor que la glucosa, en un período de 24hs., la lactosa y sacarosa, aún no se consumen quedando ácido el medio o sea totalmente amarillo.

- **No fermentación de lactosa, sacarosa ni glucosa (alcalino/alcalino).**

Un microorganismo incapaz de obtener sus nutrientes de los hidratos de carbono, lo obtiene de las peptonas. Cuando las peptonas son degradadas libran amoníaco y alcalinizan el medio. Produciéndose entonces intensificación del color.

Consideraciones del TSI: Es importante respetar el tiempo de lectura, porque si el caso 1 se lee antes de las 24hs. se va a interpretar como ac/ac y no lo que es. Si el 2 se lee después de las 24hs, los microorganismos ya se quedan sin hidratos de carbono, entonces comienzan a utilizar las peptonas y se alcaliniza el medio.

Con respecto al sulfhídrico pueden presentarse distintas modalidades:

- ✓ Pico rojo, fondo amarillo con precipitado negro y formación de gas, esto se puede dar en *Salmonella*, se lee: alc/ac (SH₂) (gas)
 - ✓ También se puede ver totalmente amarillo y el fondo negro: se lee: ac/ac (SH₂).
 - ✓ Además se puede visualizar en el tubo la producción de gas por parte del microorganismo, entonces en el medio se observan burbujas, resquebrajamiento, o si no todo el medio de cultivo aparece levantado.
- (23)

Anexo 13

Sim- Indol, Movilidad

Fundamento: Determina la capacidad de las bacterias de degradar el Triftofano dando Indol. Algunas bacterias gracias a la enzima triftofanasasa hidrolizan el aminoácido dando indol, ácido pirúvico y amoníaco. La presencia de indol se detecta observando la formación de una coloración rosa- roja en el medio al añadir para-dimetilaminobensaldehído para esto también se puede utilizar dos reactivos:

Reactivo de Kovacs:

- ✓ Alcohol amílico o isoamilico: 150ml
- ✓ Para- dimetilaminobensaldehído: 10g
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado: 50ml
- ✓ Disolver el aldehído en el alcohol y agregar lentamente con agitación constante, el reactivo es de color amarillo y se guarda protegido de la luz a 4°C.

Reactivo Ehrlich:

- ✓ Para- dimetilamino bensaldehído:2g
- ✓ Alcohol etílico: 95°, 190m
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado: 40ml

Procedimiento

- ✓ Se prepara y almacena de igual forma que reactivo de Kovacs.
- ✓ Inocular 1 a 2 colonias con asa de platino en el caldo
- ✓ Incubar de 24-48horas de 35-37°C

Interpretación De Los Resultados:

Después de la incubación, añadir uno de los reactivos:

Reactivo de Kovacs: Añadir 5 gotas agitando suavemente: la aparición de un anillo de color rojo en la superficie del medio indica producción de indol si no se forma el anillo rojo se considera la prueba negativa.

Reactivo Ehrlich:

Añadir 1ml de éter o de xilol al cultivo, agitar bien y esperar hasta que el solvente extraiga el indol a la superficie. Entonces dejar resbalar suavemente por la pared del tubo 0,5ml de reactivo. El indol concentrado en la capa superficial formara un anillo de color rojo al adicionar el Para- dimetilamino bensaldehido adquiere una coloración rosada y negativa si mantiene su coloración inicial. (19)

Anexo 14

Agar Citrato

Fundamento: Determina la capacidad que poseen algunos un microorganismo de utilizar como única fuente de carbono el citrato produciendo alcalinidad.

Procedimiento:

Preparar el medio y repartir en tubos a razón de 4 a 5 ml por tubo. Esterilizar en autoclave y dejar enfriar en posición inclinada, con el pico de flauta bastante largo. Inocular en estrías en el pico de flauta desde el fondo hasta la parte más alta. Incubar de 35-37°C durante 24 a 48 horas

Interpretación De Resultados:

Son dos los aspectos que confirman la positividad de la prueba:

- La observación de crecimiento sobre pico de flauta
- La variación de coloración de verde a azul debido a la alcalinización del medio, producida por la liberación de sodio del citrato utilizado, sodio que con las moléculas de agua presentes formara hidróxido de Sodio. (23)

Anexo 15

Agar fenilalanina.

Medio de cultivo utilizado para diferenciar *Morganella morganii* biogrupo 1 y 2, *Proteus spp.*, y *Providencia spp.*, de la mayoría de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae, en base a la presencia de la enzima fenilalanina desaminasa.

Fundamento

En el medio de cultivo, el extracto de levadura aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano. El aminoácido fenilalanina sufre la desaminación oxidativa catalizada por la enzima fenilalanina desaminasa (es una flavoproteína), para producir ácido fenilpirúvico y amoníaco. La presencia del ácido fenilpirúvico se demuestra con el agregado de cloruro férrico en medio ácido, con el cual se forma un quelato de color verdoso entre el ácido fenil pirúvico y los iones Fe^{3+} . Además, en este medio se suele poner en evidencia la producción de pigmentos melánicos, como en el caso de *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.

Instrucciones

Suspender 23g del polvo en un litro de agua destilada. Calentar a ebullición hasta disolver todo el polvo. Colocar en tubos y esterilizar a 121° C durante 15 minutos. Solidificar en posición inclinada para obtener picos de flauta alargados.

Siembra

A partir de un cultivo puro de 18-24 horas, sembrar un inóculo denso estriando la superficie del medio.

Incubación

Incubar de 18 a 24 horas a 35-37 °C, en aerobiosis.

Luego, se debe realizar el revelado: agregar unas gotas de una solución acuosa de cloruro férrico al 10%.

Resultados

El análisis de los resultados debe realizarse dentro de los primeros 5 minutos.

Positivo: Desarrollo de color verde pálido a intenso en el pico de flauta y en el líquido de condensación.

Negativo: Sin cambios de color. El medio permanece amarillo debido al color del reactivo cloruro férrico. (22)

microorganismo	Fenilalanina desaminasa	Color del pico de flauta y o líquido de concentración
<i>Escherichia coli</i>	negativo	Amarillo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negativo	Amarillo
<i>Proteus mirabilis</i>	positivo	verde
<i>Providencia spp.</i>	positivo	verde
<i>Morganella morganii</i>	positivo	verde

Anexo 16



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CENTRO DE DIAGNOSTICO MEDICO DEL ASH-UNL**

Loja, 26 de Abril del 2013

Lic. Fabricio Jaramillo Ojeda
RESPONSABLE DEL CENTRO DE DIAGNOSTICO MEDICO DEL ASH DE LA UNL.

CERTIFICO:

Que el Sr. FRANCISCO GABRIEL TORRES PAREDES , egresado de la Carrera de Laboratorio Clinico del ASH de la UNL, por motivo de la ejecución de su proyecto de tesis denominado: **"IDENTIFICACION DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRURGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO A JUNIO DEL 2013 "**, procesó un total de 100 muestras a las cuales les realizó los análisis correspondientes de: Cultivo e Identificación de Agentes Bacterianos, en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología del "Centro de Diagnostico Medico" del Área de la Salud Humana, durante el periodo comprendido del 6 de Marzo al 03 de Abril del 2013.

Particular que pongo a su disposición para los fines pertinentes.

Atentamente,



Lic. Fabricio Jaramillo Ojeda
RESPONSABLE DEL CENTRO DE DIAGNOSTICO MEDICO DEL ASH DE LA UNL.

Anexo 17

Loja, 14 de Mayo del 2013

Sr. Dr.

VICENTE FACTOS

JEFE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA.

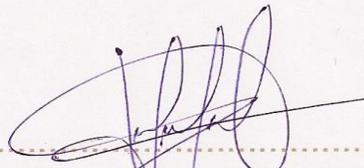
Reciba un cordial saludo, deseándole éxito en las labores a Usted confiadas.

A través de la presente me dirijohacia usted para manifestarle mi agradecimiento por el tiempo y la atención brindada para el desarrollo del proyecto de tesis: **IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2013.** Exteriorizo mi sentido de gratitud, por haberme permitido realizar la toma de muestras del ambiente del Centro Quirúrgico.

Además por la información, por sus consejos y apoyo que me proporcionó, que estoy seguro me serán de gran utilidad en el desarrollo posterior de este estudio.

Como muestra del trabajo realizado adjunto los resultados de mi estudio.

Muy atentamente,



Francisco Gabriel Torres Paredes
AUTOR DEL PROYECTO DE TESIS

Rec.
09h00
14/05/2013
Dr. José Vicente Factos Santander
MEDICO ANESTESIOLOGO
MSP: L III - F 456 - N°1567

Resultados obtenidos en el proyecto de tesis: “IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA, COMO FACTOR PREDISPONENTE DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2013.”

BACTERIAS IDENTIFICADAS EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	59	68
<i>Streptococos pyogenes</i>	11	13
<i>Enterobacter spp.</i>	9	10
<i>Streptococos viridans</i>	7	8
<i>Estafilococos aureus</i>	1	1
Total	87	100

Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

BACTERIAS IDENTIFICADAS CON MÁS FRECUENCIA EN EL AMBIENTE DEL CENTRO QUIRÚRGICO, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	ANTES CIRUGÍA		CULTIVOS	DESPUÉS CIRUGÍA		CULTIVOS
	f	%		f	%	
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	27	54	50	32	64	50
<i>Streptococos pyogenes</i>	4	8		7	14	
<i>Enterobacter spp.</i>	4	8		5	10	
<i>Streptococos viridans</i>	3	6		4	8	
<i>Estafilococos aureus</i>	0	0		1	2	
TOTAL	38			49		

Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

BACTERIAS MÁS FRECUENTES EN EL AMBIENTE DEL QUIRÓFANO 1, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	ANTES CIRUGÍA		DESPUÉS CIRUGÍA	
	f	%	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	8	16	12	26
<i>Streptococos pyogenes</i>	1	2	4	8
<i>Enterobacter spp.</i>	1	2	1	2
<i>Streptococos viridans</i>	1	2	1	2
<i>Estafilococos aureus</i>	0	0	1	2

Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

BACTERIAS MÁS FRECUENTES EN EL AMBIENTE DEL QUIRÓFANO 2, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	ANTES CIRUGÍA		DESPUÉS CIRUGÍA	
	f	%	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	6	16	10	20
<i>Streptococos pyogenes</i>	2	4	0	0
<i>Enterobacter spp.</i>	0	0	2	4
<i>Streptococos viridans</i>	1	2	1	2

Fuente: Registros de muestras de cultivos.

Elaborado por: Torres Paredes F.

BACTERIAS MÁS FRECUENTES EN EL AMBIENTE DEL QUIRÓFANO 3, 2013.

BACTERIAS IDENTIFICADAS	ANTES CIRUGÍA		DESPUÉS CIRUGÍA	
	f	%	f	%
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	9	18	13	26
<i>Streptococos pyogenes</i>	1	2	3	6
<i>Enterobacter spp.</i>	2	4	3	6
<i>Streptococos viridans</i>	1	2	2	4

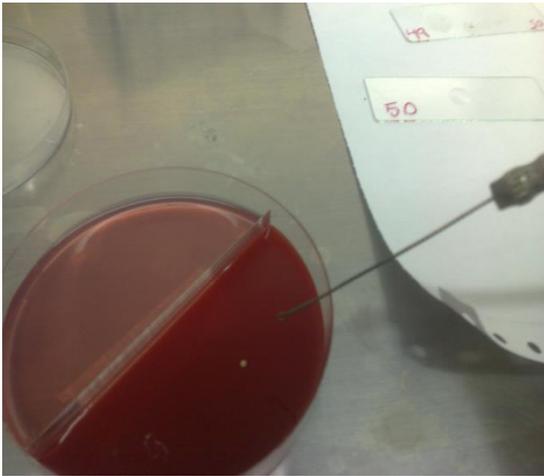
Fuente: Registros de muestras de cultivos.

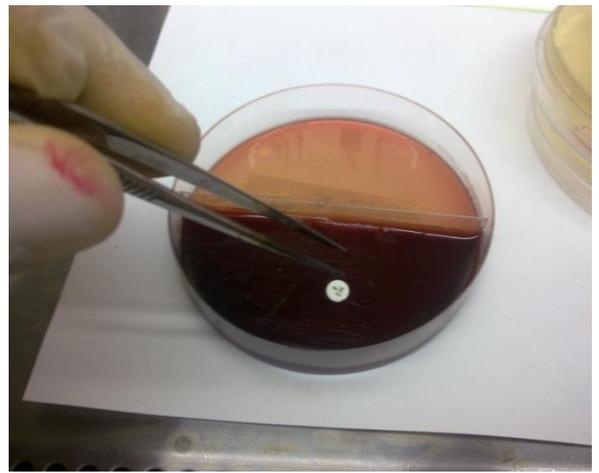
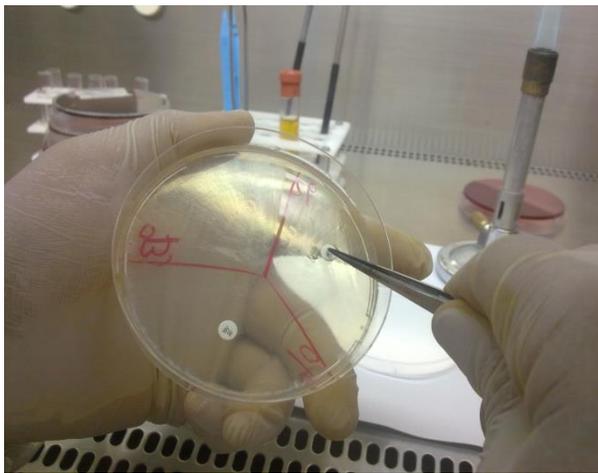
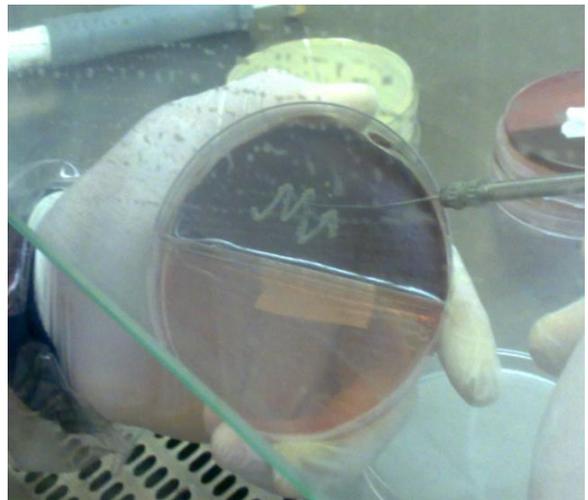
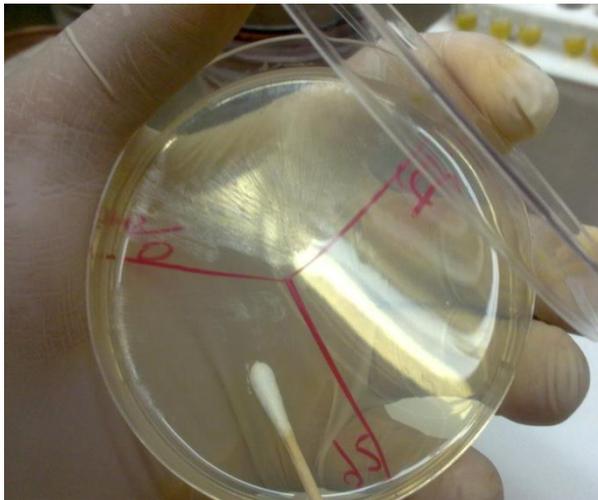
Elaborado por: Torres Paredes F.

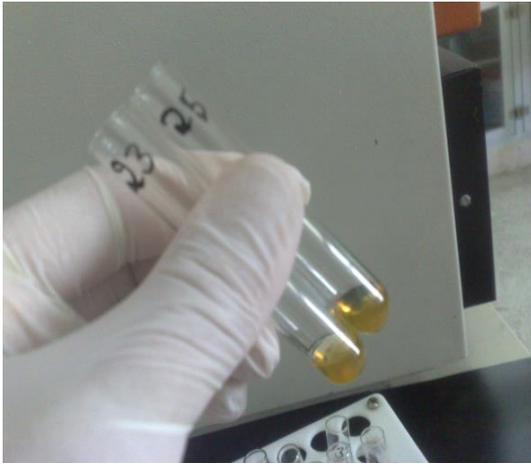
Anexo 18
Fotos Del Estudio











XII. ÍNDICE

	Pág.
CARATURA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
I. TÍTULO.....	7
II. RESUMEN - SUMMARY.....	8
III. INTRODUCCIÓN.....	11
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
V. MATERIALES Y METODOS.....	36
VI. RESULTADOS.....	40
VII. DISCUSIÓN.....	44
VIII. CONCLUSIONES.....	48
IX. RECOMENDACIONES.....	50
X. BIBLIOGRAFÍA.....	52
XI. ANEXOS.....	56
XII. INDICE	95