AREA DE LA SALUD HUMANA

NIVEL DE POSGRADO

CARRERA: CIRUGIA GENERAL

TEMA:

"ESTUDIO EXPERIMENTAL SOBRE LOS GERMENES MAS FRECUENTES IDENTIFICADOS EN INFECCIONES DE HERIDAS QUIRURGICAS POSTERIOR A APENDICECTOMIAS EN EL PERIODO DE MARZO 2011 A MARZO 2012 EN LOS PACIENTES DEL AREA DE CIRUGIA GENERAL DEL HOSPITAL PABLO ARTURO SUAREZ DE QUITO".

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE CIRUJANO GENERAL

AUTOR:

MD. F. KARINA LEÓN LOAIZA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. DIEGO ANDRADE

LOJA

DICIEMBRE - 2012

CERTIFICACIÓN:

DR. NELSON SAMANIEGO.
COORDINADOR DEL POSGRADO DE CIRUGÍA GENERAL DE LA UNL

CERTIFICO:

Que luego de haber revisado la tesis de autoría de la Md. F. Karina León Loaiza, con el TEMA: "ESTUDIO DESCRIPTIVO SOBRE LOS GÉRMENES MAS FRECUENTES IDENTIFICADOS EN INFECCIONES DE HERIDAS QUIRÚRGICAS POSTERIOR A APENDICECTOMIAS EN EL PERIODO DE MARZO2011 A MARZO 2012 EN LOS PACIENTES DEL ÁREA DE CIRUGÍA GENERAL DEL HOSPITAL PABLO ARTURO SUAREZ DE QUITO", cumple con los lineamientos universitarios y puede ser presentada para su disertación final .

Atentamente:

Dr. Diego Andrade
MD. CIRUJANO GENERAL DEL HPAS QUITO
DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA:

MD. FANNY KARINA LEÓN LOAIZA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiar siempre mi camino y darme la inteligencia para poder desarrollarme como persona y profesional. Así mismo a la Universidad Nacional de Loja por la apertura de la Especialidad de Cirugía General, al permitir el acceso a Concursos de merecimiento y oposiciones de la misma y de esa manera colaborar a completar mi formación.

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a mis Padres y de manera especial a la memoria de mi Padre quien siempre me impulso e inculco en mi la necesidad de superación personal y profesional para ser un mejor ente a la sociedad. Gracias por siempre iluminarme y bendecirme desde el cielo. Este nuevo esfuerzo y logro en mi vida es para ti.

ÍNDICE

I. CERTIFICACIÓN
II. AUTORÍA
III. AGRADECIMIENTO
IV. DEDICATORIA
VIII. RESUMEN
IX. SUMARY
X. INTRODUCCIÓN
XII. JUSTIFICACIÓN
XIII. OBJETIVOS
XIV. HIPÓTESIS
XV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA
1. INFECCIONES DE HERIDA QUIRÚRGICA
1.1. INTRODUCCIÓN
1.3. DEFINICIONES
2. CLASIFICACIÓN DE LAS INFECCIONES QUIRÚRGICAS
2.1. Relativa al pronóstico final
2.2. Relativa al momento de inicio
3. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN DEL SITIO QUIRÚRGICO
3.1. CICATRIZACIÓN DE HERIDAS
3.1.1. Fase de Inflamación
3.1.2. Fase de Proliferación o Reparación
3.1.3. Fase de Maduración y Remodelación
4. EPIDEMIOLOGÍA
4.1. Factores relacionados con el germen
4.2. Factores inherentes al paciente
4.3. Factores inherentes a la intervención quirúrgica
4.4. Factores inherentes a la técnica quirúrgica
4.5. Factores inherentes a la hospitalización

5. ETIOLOGÍA

5.1. MICROBIOLOGÍA

5.1.1. Cocos Grampositivos

5.1.2. Bacilos Aerobios Facultativos

5.1.3. Anaerobios

6. MODOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

6.1.1. Estructura de las bacterias gram negativas.

6.1.2. Estructura de las bacterias gram positivas.

6.2. AGENTES ANTIMICROBIANOS

6.2.1. AGENTES BACTERIOSTATICOS VS BACTERICIDAS

6.2.2. MODO DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

7. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

8. DIAGNOSTICO DE INFECCIONES QUIRÚRGICAS

8.1. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN EL SITIO DE INFECCIÓN.

8.1.1. Infección del Sitio Quirúrgico Incisional Superficial

8.1.2. Infección del Sitio Quirúrgico Incisional Profundo

8.1.3. Infección del Sitio Quirúrgico en Espacio Orgánico

8.2. DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO

8.2.1. Criterios para obtención y manejo de muestras

8.2.2. Obtención de muestra de herida operatoria

8.2.3. Obtención de muestra de absceso por aspiración con aguja.

8.2.4. Envió y transporte de muestras

9. PROCEDIMIENTOS PARA DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO

9.1. Siembra primaria de muestra de herida operatoria

9.2. Métodos de coloración gram

9.3. Identificación de Bacterias Gram negativas Fermentadoras: E. coli, Klebsiella y Enterobacterias.

9.4. Identificación de Bacterias Gram negativas no Fermentadoras: Pseudomonas

10. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

1O.1 Método de Disco Difusión

10. 2 Prueba de CIM

11. PROFILAXIS ANTIBIÓTICA

11.1. SELECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS

11.1.1. Criterios Utilizados para Seleccionar los Antibióticos

11.1.2. Cuándo administrar los antibióticos...

11.1.3 Cuánto tiempo se deben administrar los antibióticos profilácticos

11.1.4. Efectos secundarios de la profilaxis antibiótica

12. TRATAMIENTO DE LAS HERIDAS INFECTADAS

13. PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN EN EL SITIO QUIRÚRGICO

11.1. Preparación preoperatoria

11.2. Medio ambiente de quirófano

11.3. Periodo postoperatorio

XVI. METODOLOGÍA

XVII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

XVIII. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

XIX. CONCLUSIONES

XX. RECOMENDACIONES

XXI. BIBLIOGRAFÍA

XXII. ANEXOS

RESUMEN

Estudio intervencionista prospectivo realizado durante los meses de marzo 2011 a marzo 2012 en el Hospital Pablo Arturo Suárez de Quito, se dio seguimiento a 50 pacientes intervenidos quirúrgicamente que presentaron infección de herida operatoria.

El objeto del estudio era determinar el germen más frecuente asociado a infección de heridas quirúrgicas de apendicitis, la incidencia de infección de herida quirúrgica y los factores relacionados como: grado de apendicitis, tiempo quirúrgico, tipo de infección superficial, profunda y de órgano/espacio así como la resistencia bacteriana de los antibióticos administrados. Para ello se realizo toma de muestra para cultivos de herida en los pacientes que presentaron signos y síntomas tales como: eritema, edema, exudado purulento, fiebre > 38.5°C, dolor abdominal, leucocitosis, evaluados por el médico residente de cirugía en el posoperatorio durante la hospitalización.

La muestra para cultivo se realizó en el caso de las heridas superficiales y profundas siguiendo el siguiente protocolo: colocación de guantes estériles, limpieza de los bordes de la herida con antiséptico, seguido de la toma de muestras con hisopos de algodón de la profundidad de la herida y posterior colocación en medio de transporte (Stuart o Amies con carbón) en el caso de las infecciones órgano/cavidad que fueron re intervenidas se realizó la toma de muestra mediante aspiración con aguja estéril, en el transoperatorio.

Los cultivos realizados permitieron identificar que los gérmenes más frecuentes encontrados fueron: E. coli en 53%, seguido de Klebsiella 10% y Staphylococcus aureus en 7%; en el otro 30% restante se encontró Pseudomona, Sreptococcus, y otras Enterobacterias. En cuanto a la

incidencia de infección de herida quirúrgica se presentó en 50 pacientes que corresponden al 10,18%.

Se determinó que hubo correlación entre el grado de apendicitis y el germen identificado. El tiempo quirúrgico en este estudio no influyo en la aparición de gérmenes infectantes en la herida quirúrgica, y los gérmenes presentes según el tipo de infección superficial, profunda y órgano/cavidad fueron en mayor frecuencia gram negativos. Lo cual nos indica que en este estudio el principal factor para la infección fue el grado de apendicitis y la técnica quirúrgica por posible contacto de flora entérica con la herida En cuanto a la resistencia bacteriana los gérmenes gram negativos fueron quienes presentaron mayor resistencia antibiótica principalmente a la Ciprofloxacina.

SUMARY

Prospective interventional study during the months of March 2011 to March 2012 in the Hospital Pablo Arturo Suarez de Quito, he followed up 50 patients who had undergone surgery wound infection.

The purpose of the study was to determine the most common pathogen associated with surgical wound infection of appendicitis, the incidence of surgical wound infection and related factors such as degree of appendicitis, operative time, type of superficial infection, deep and organ / space and bacterial resistance to antibiotics administered. This was done sampling for crop injury patients had signs and symptoms such as erythema, edema, purulent discharge, fever> 38.5 ° C, abdominal pain, leukocytosis, assessed by the surgical resident physician in the postoperative during hospitalization.

The culture sample was done in the case of superficial and deep wounds the following protocol: placing sterile gloves, cleaning of the edges of the wound with an antiseptic, followed by taking samples of cotton swabs depth wound and subsequent placement in transport medium (Stuart or Amies with charcoal) in the case of infections organ / space that were re intervened was performed the sampling sterile needle aspiration in the perioperative.

The cultures made it possible to identify the most common germs found were: Escherichia coli in 53% followed by 10% and Klebsiella, Staphylococcus aureus in 7%, the other 30% is found Pseudomonas, Sreptococcus, and other Enterobacteriaceae. Regarding the incidence of wound infection was present in 50 patients that pertain to 10.18%.

t was determined that there was no correlation between the degree of appendicitis and germ identified. Operative time in this study did not influence the occurrence of infectious germs in the wound, and germs by type of superficial infection, deep and organ / space were more frequently gram negative. Which indicates that in this study the main factor for infection was the degree of appendicitis and surgical technique for possible contact with the wound enteric flora As bacterial resistance gram negative germs were those who had higher antibiotic resistance mainly Ciprofloxacin.

INTRODUCCION

Una infección de herida quirúrgica es aquella que tiene lugar en cualquier localización a lo largo de la incisión quirúrgica tras una intervención. En 1992 el Surgical Wound Infection Task Force publicó nuevas definiciones e introdujeron el término IFQ (Infección de Foco Quirúrgico) que las clasifica en superficiales (piel y Tejido Celular Subcutáneo) y Profundas (fascia y músculo) estas últimas relacionadas con órganos/cavidades las cuales afectan a cualquier estructura anatómica abierta o manipulada durante el procedimiento quirúrgico.

En general la contaminación de la herida operatoria es un evento que se produce en el mismo acto quirúrgico, principalmente a partir de la flora propia del paciente (flora endógena) o por el ingreso de microorganismos desde el personal o la sala de cirugía (flora exógena). Un Germen se define como un organismo microscópico (bacteria, virus, parásito, hongo) este estudio se basa en las bacterias aerobias gram negativas y gram positivas que se denominan así por la tinción de Gram, método basado en la propiedad de retener o no el colorante cristal violeta en la pared celular bacteriana.

Hasta un 20% de la flora habitual residente puede alojarse profundamente en (folículos pilosos y glándulas sebáceas) el uso de antisépticos tópicos disminuye pero no erradica totalmente la flora habitual. En general los microorganismos de la flora endógena contaminan la herida operatoria durante el acto quirúrgico a partir de la flora residual de la piel o por contacto directo luego de la apertura de una mucosa o de una víscera hueca.

Por otro lado los microorganismos de la flora exógena involucrados con mayor frecuencia son Staphylococcus aureus y Staphylococcus

epidermidis, ya que uno de los reservorios más importantes es la piel y mucosas del personal. Alrededor de un 20% de individuos sanos portan S. aureus en sus fosas nasales y en el periné.

Es así que la microbiología de la IFQ está relacionada con la flora bacteriana presente en la región anatómica expuesta durante una intervención concreta, Staphylococcus aureus sigue siendo el patógeno más frecuente en las IFQ, sin embargo en la cirugía limpia contaminada y contaminada la causa más frecuente es Escherichia coli y otras Enterobacterias.

El Diagnóstico de una infección de Herida Operatoria ser realiza en base a Criterios Diagnósticos que incluyen: aparición de infección durante los 30 primeros días en el posoperatorio, signos locales de inflamación, exudado de la herida, y otros signos en caso de infecciones órgano/cavidad. En cuanto a métodos diagnósticos y confirmatorios que nos permite además saber el tipo de microorganismo específico y su sensibilidad y resistencia a los antibióticos es el Cultivo de la Herida.

Entre los factores relacionados con mayor índice de infección de la herida operatoria siguen estando presentes la técnica quirúrgica, el tiempo quirúrgico empleado, el grado de apendicitis, y otros factores propios del paciente. Un punto importante para prevenir la infección de la herida sin olvidar que no es una opción que permita disminuir la calidad de los cuidados, es la profilaxis antibiótica que debe ser administrada 30 minutos previos a la cirugía o en el traspoperatorio y que en casos de prolongación de cirugía más de 2 horas se debe administrar otra dosis. Para aquellas cirugías que se presentó ruptura total de las normas de asepsia y antisepsia así como presencia de material purulento o fecal en la cavidad se instauro antibióticoterapia.

El presente trabajo se realizó en 50 pacientes que presentaron infección del sitio operatorio intervenidos quirúrgicamente por diagnóstico de Apendicitis Aguda en el Hospital Pablo Arturo Suarez en los meses de marzo 2011 a Marzo 2012. Se buscó recopilar las muestras de heridas infectadas superficiales, profundas y de órganos/espacio para su envió a cultivo y así determinar el germen más frecuente identificado, aspectos relacionados con mayor probabilidad de infección y la resistencia del germen al antibiótico administrado.

En cuanto al análisis de los resultados se determinó que siguen presentándose factores de riesgo que conllevan el desarrollo de infección de la herida, se identificó los gérmenes aislados en estas heridas y la relación del germen con el grado de apendicitis y aspectos relacionados con la técnica quirúrgica que condicionaron su proliferación. El uso de antibiótico profilaxis y la resistencia bacteriana demostrada por antibiograma. En base a los resultados obtenidos se pudo orientar a un mejor manejo en la técnica quirúrgica, concientizar sobre el tiempo que se pierde al no hacer un diagnóstico a tiempo antes que se presente una apendicitis complicada y ratificar el uso de profilaxis antibiótica y antibióticoterapia teniendo en cuenta resultados de cultivos y antibiograma para obtener mejores resultados en el tratamiento y menores costos hospitalarios y para el paciente.

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento epidemiológico de la infección nosocomial actualizado en una institución es básico y permite establecer los riesgos para enfermar, analiza la incidencia de infección nosocomial, reconoce las características inherentes de los agentes etiológicos y los factores con ellos relacionados permite orientar acciones para disminuir los costos y optimizar la calidad de atención.

Según la OPS solamente el 5 % de los hospitales informan tener comités con programas regulares de control de infecciones nosocomiales. El 70% de las infecciones nosocomiales pertenecen al paciente quirúrgico. De estas tenemos que la infección de la herida quirúrgica se encuentra en tercer lugar presentándose en 1 4 % y 1 6 %.

Este estudio se justifica ya que permitirá optimizar el tratamiento de pacientes con heridas infectadas mediante el uso de cultivos y antibiogramas que indicaran con mayor precisión el germen identificado la sensibilidad y resistencia a los antibióticos para un mejor uso de los mismos. Y por otro lado permitirá demostrar que hay factores inherentes a la técnica quirúrgica que pueden ser mejorados por parte del personal médico para de esa manera reducir el riesgo de infección de las heridas y a la vez reducir la incidencia de infecciones nosocomiales a causa de infecciones del sitio operatorio en pacientes quirúrgicos.

Además en mi calidad de estudiante del posgrado de cirugía de la Universidad Nacional de Loja la cual propone la necesidad de investigar a través de objetos de transformación, aplicados a la realidad de las problemáticas de salud, hacia la búsqueda de alternativas de cambio y posibles soluciones con el avance científico y experimental es que he realizado el presente estudio con la finalidad de ampliar mi conocimiento

sobre infecciones quirúrgicas ya que es una complicación que puede presentarse en todo procedimiento quirúrgico, permitiéndome así tener en cuenta lo necesario para disminuir la posibilidad de esta complicación en mi práctica profesional así como también aportar con la institución donde se realizó el presente estudio mediante los resultados y conclusiones obtenidas para de esa manera se tengan en cuenta y mejorar en todos los aspectos técnicos encontrados que contribuyeron al desarrollo de la infección quirúrgica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Identificar los gérmenes más frecuentes asociados a infección de la herida quirúrgica a través de cultivos realizados de la secreción de las heridas de pacientes intervenidos quirúrgicamente por Apendicitis Aguda, en el Hospital Pablo Arturo Suarez de Quito, durante el período del mes de Marzo 2011 a Marzo del 2012.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la incidencia de infección de herida operatoria.
- Determinar la correlación existente entre el grado de apendicitis aguda y el germen identificado en la muestra de la herida infectada.
- Definir la relación entre el tiempo quirúrgico y el germen aislado de la herida infectada.
- Conocer el agente causal relacionado con el sitio de infección.
- Analizar los gérmenes que presentaron resistencia bacteriana a los antibióticos utilizados comúnmente.

VARIABLES:

VARIABLE DEPENDIENTE:

- Germen.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Grados de Apendicitis Aguda.
- Tiempo quirúrgico.
- Sitios de infección de la herida quirúrgica: superficial y profunda.
- Resistencia bacteriana a los antibióticos.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLES INDEPENDIENTES			
GERMEN	**GRADOS DE APENDICITIS**	**TIEMPO QUIRÚRGICO**	**SITIO DE INFECCIÓN DE LA HERIDA**	**RESISTENCIA BACTERIANA**
Se define como germen al Microorganismo unicelular microscópico capaz de causar infección quirúrgica relacionada con la flora bacteriana presente en la región anatómica expuesta durante una Intervención concreta. Se diferencian por la coloración de Gram. La flora bacteriana más frecuente Identificada es: Gram +: S.aureus Gram -: E.coli Enterobacterias Estreptococcus viridans P. aeruginosa Anaerobios: Bacteroides	La clasificaciones de la apendicitis aguda se relaciona con los estadios clínicos de evolución de la enfermedad “Pera” las identifica en: **Catarral:**Hiperemia de la pared y congestión vascular de predominio venoso. **Flemonosa:**Compromiso venoso y linfático. Hay exudado fibrinopurulento. Proliferación bacteriana.**Gangrenosa:** Necrosis de la pared apendicular y traslocación bacteriana **Perforada:**La pared apendicular se perfora y libera material purulento y fecal hacia la cavidad abdominal	Se establece que el tiempo quirúrgico mayor de 2 horas podría influenciar negativamente en el riesgo de infección a través de diferentes factores, entre ellos un mayor tiempo de exposición de la herida, un mayor traumatismo de los tejidos y mayores dificultades técnicas	**La IHQ Superficial** afecta a los tejidos hasta la fascia, mientras que las **La IHQ Profunda** se extiende debajo de la fascia, pero no dentro de la cavidad. Las infecciones de órganos o espacios son subfasciales o intracavitarias.	La resisten bacteriana, aumenta el riesgo de infección de herida quirúrgica. Puede ser natural y adquirida. La primera es la que presenta en forma primaria ciertos tipos de bacterias a determinado grupo de drogas. La adquirida puede originarse de dos maneras: 1) por mutación al azar, seguida de una selección, o 2) por la selección de mecanismos naturales preexistentes.

MARCO TEÓRICO

INFECCIONES DE LA HERIDA QUIRÚRGICA

HISTORIA:

Algunos autores de la antigüedad mencionan la Teoría del llamado "Pus Laudable" en la que aseguraban que la aparición de pus era parte normal del proceso de recuperación. A principios del siglo XIX incluso los mejores cirujanos con sus mejores técnicas, veían fracasar sus grandes obras cuando sus pacientes morían por infección postoperatoria. Apareció entonces el eminente cirujano Sir James Simpson, quién introdujo el uso de cloroformo e instó a sus colegas a operar sobre mesas de cocina o en pequeños hospitales para disminuir las tasas de infección, no teniendo mucha acogida[1]

En 1840 los tocólogos Semmelweis y Oliver Wendell demostraron claramente que la fiebre puerperal era transmitida a las parturientas por las manos de sus médicos y que el sólo hecho de lavarse las manos con soluciones cloradas de cal disminuían considerablemente tal situación.

En 1864 tanto Henry Biguelow como J. Mason Warren escribieron acerca de la infección que con demasiada frecuencia aparecía luego del acto quirúrgico, la unión por primera intención era rara y parte de la culpa recayó en los padres de la ciudad responsables de la situación poco higiénica que entonces prevalecía.[2]

Hacia mediados del siglo XIX, fue el joven médico ingles Joseph Lister quién empezó a investigar diferentes problemas asociados a la cirugía tales como la inflamación, curación de las heridas y los efectos de la coagulación de la sangre y derivados de ellos. Retomando los conceptos de Luis Pasteur, quién hacia 1865 hablara de la teoría de los gérmenes que sustentaban que

---

[1] 14. MEZA V,Luis Fernando. HERIDAS QUIRÚRGICAS. Colombia.
[2] 16. PROMIS, Gustavo. Infección de la Herida Quirúrgica. Rev. Chilena de Cirugía. 2000. Vol.5

la formación de pus, las infecciones de las heridas y algunas fiebres debían ser causadas por microorganismos procedentes del medio ambiente, Lister empezó a usar el ácido carbólico en las heridas y posteriormente introdujo el ácido fémico para el lavado de las manos. Kocher de Suiza, basado en la mala experiencia observada durante la guerra Franco-Prusiana de 1870, en la que la mortalidad de 344 amputaciones supracondíleas fue del 100% por sepsis postoperatoria, introdujo técnicas quirúrgicas con hemostasia meticulosa y limpieza extrema. Halsted en EEUU se convirtió en el campeón de la asepsia hacia 1890, siguiendo las técnicas de Kocher e inició el uso de los guantes quirúrgicos.

Varios años después, aparece en 1961 John Burke, con un estudio experimental sobre la quimioprofilaxis de las heridas dérmicas y demostró cómo los antibióticos por vía sistémica eran activos contra la infección si eran aplicados durante el período pre incisional, garantizando así la eficacia máxima. En 1973 Peter Cruse y Rosemary Ford de Canadá realizaron uno de los más grandes estudios al respecto clasificando los factores más frecuentemente asociados y comprobaron cómo modificándolos se disminuían exitosamente los índices de complicación quirúrgica.

INTRODUCCIÓN:

Se ha producido un cambio de terminología respecto a las infecciones relacionadas con intervenciones quirúrgicas, para evitar la confusión entre las infecciones de las incisiones quirúrgicas y las heridas traumáticas.

Las infecciones de las incisiones se conocen como infecciones de la herida quirúrgica (IHQ). Las infecciones de la herida quirúrgica se reconocen como una complicación habitual de la cirugía; se producen en casi todas las intervenciones, y en hasta un 20% de los pacientes sometidos a intervenciones intra abdominales urgentes. [3]

[3] 1. Lena Napolitano. CLÍNICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMÉRICA. 2005. Vol. 85. Pags 1115-1131

Las complicaciones potenciales incluyen: destrucción tisular, falta o prolongación de la cicatrización correcta de la incisión, hernias ventrales y bacteriemia ocasional. Además es posible el dolor recurrente y las cicatrices antiestéticas e incapacitantes. Las infecciones de la herida quirúrgica conducen a una morbilidad sustancial, prolongación de la estancia hospitalaria y aumento de los costes directos para el paciente. Todos esos factores tienen un impacto sustancial sobre los pacientes y hospitales.

DEFINICIONES: La infección puede producirse dentro de la herida quirúrgica a cualquier profundidad desde la piel misma hasta la cavidad más profunda que quede después de la resección de un órgano.

La IHQ Superficial afecta a los tejidos hasta la fascia, mientras que las **IHQ Profunda** se extienden debajo de la fascia, pero no dentro de la cavidad.
Las infecciones de órganos o espacios son sub fasciales o intra cavitarias, pero si guardan relación directa con la operación.

Las Celulitis: es el eritema de la piel relacionado con la infección, sin drenaje ni fluctuación.

Abscesos: se refiere a colecciones localizadas de material purulento dentro del tejido.

Infecciones necrosantes de las partes blandas: Invaden los tejidos de forma amplia y rápida, causando necrosis tisular generalizada. Cuando se afecta la fascia, la infección se denomina fascitis necrosante.. Sin embargo, las infecciones necrosantes de partes blandas son muy inusuales en el período postoperatorio. Dos ejemplos infrecuentes, son las IHQ causadas por Streptococcus pneumoniae o Clostridium perfringens.

CLASIFICACIÓN DE LAS INFECCIONES QUIRÚRGICAS

1.- Relativa al pronóstico final:

- **Infecciones Auto limitadas**: El paciente se recupera por completo sin tratamiento.
- **Infecciones Graves que requieren Tratamiento Quirúrgico**: El pronóstico depende de la naturaleza del tratamiento, tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta su administración y criterio clínico.
- **Infecciones Fulminantes:** Son mortales y originan incapacidad permanente.

2.- **Relativa al momento del inicio:**

- **Infección Quirúrgica Preoperatoria**: Los microorganismos entran en el cuerpo antes de la intervención quirúrgica.
- **Infección Quirúrgica Transoperatoria**: Los microorganismos entran en el cuerpo durante la operación o como resultado inmediato de esta.
- **Infección Quirúrgica Posoperatoria**: Son complicaciones de la operación y de la atención postoperatoria del paciente, infección de incisiones, infección del aparato respiratorio, infección del aparato urinario.[4]

FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN DEL SITIO QUIRÚRGICO

La propensión de una herida quirúrgica a convertirse en infectada está determinada por varios factores:

- Magnitud del inoculo y
- Tipo de microorganismos contaminantes, y

[4] 18. SAWYER, Robert. Preutt, Timothy. INFECCIÓN DE LAS HERIDAS. CLÍNICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMÉRICA. Editorial Interamericana. 1994. Vol.3. pags: 549-566.

- Actividad de las defensas locales y sistémicas del huésped. [5]

Dado que es dificultosa la evaluación de esos factores prospectivamente, las heridas quirúrgicas son clasificadas de manera empírica según el probable grado de contaminación bacteriana postoperatoria:

1**.- HERIDAS LIMPIAS:** Es una herida planeada, cerrada de manera primaria y sin que se haya identificado inflamación aguda sin entrar en las cavidades quirúrgicas. (tracto gastrointestinal, genitourinario o respiratorio), sin rompimiento de la técnica estéril. Los índices de infección son alrededor de 3 a 5% generalmente debido a agentes exógenos. (Cirugía de tiroides, paratiroides, hernias no complicadas, esplenectomía, laparotomía exploradora, colecistectomía simple y laparoscópica, mastectomía)

2.- HERIDAS LIMPIAS CONTAMINADAS: Son aquellas en las que se procede de acuerdo con normas estrictas de asepsia y antisepsia en cirugía programada o de urgencia; pero en las cuales se abre un conducto u órgano normalmente colonizado, con fugas mínimas. Reoperaciones a través de una incisión limpia en plazo de siete días; los índices de infección son menos del 10% y en general se debe a la microflora endógena. (Cirugía esofágica, gástrica e intestino delgado sin obstrucción, coledocolitiasis sin ictericia, colo-rectal con profilaxis, apendicitis flemonosa y pancreatitis crónica).

3.- HERIDAS CONTAMINADAS: Se encuentra inflamación no purulenta aguda, ruptura importante de la técnica estéril o escape a partir de un órgano hueco, traumatismo penetrante de menos de cuatro horas de evolución, heridas abiertas crónicamente para injertos, la incidencia de infección es de 15 a 20%. (Cirugía de apendicitis gangrenosa, gástrica con obstrucción,

[5] 4. Pedro Ferraina, CIRUGÍA DE MICHANS. Sección I. Heridas y Cicatrización. Pag: 60-78. 5ta. Edic. 2002.

colo-rectal sin profilaxis, vías biliares con obstrucción, hernias complicadas, pancreatitis aguda, obstrucción intestinal).

4.- HERIDAS SUCIAS: En estas heridas existe material séptico como pus, materia fecal, lodo en contacto con herida, traumatismo penetrante de más de cuatro horas de evolución, los índices de infección pueden alcanzar hasta el 40%. (Abscesos de cualquier localización, peritonitis, pancreatitis necrotizante, proctología).

Los microbios que contaminan la herida quirúrgica y pueden provocar infección provienen de distintos lugares:

1) Superficie externa del huésped, piel o mucosa,
2) Microflora autóctona de la víscera correspondiente;
3) Contaminación exógena del ambiente o personal quirúrgico debido a una ruptura de la técnica quirúrgica aséptica, o
4) Combinación de esos lugares.

La infección quirúrgica subsecuente a las heridas limpias, es causada por microflora de la piel (Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Streptococcus pyogenes y otros estreptococos). Gérmenes gran negativos, como Escherichia coli, son responsables de un pequeño número de estas infecciones.

En las heridas limpias contaminadas, los gérmenes recuperados son de ambos tipos (75 a 85 %), aunque más frecuentemente corresponden a los de la víscera en cuestión. Por ejemplo, operaciones efectuadas sobre el íleon o el colon. Gérmenes entéricos gran negativos aerobios como E. coli y Klebsiella pneumoniae, y anaerobios como Bacteroides fragilis, Bacteroides spp. u otros anaerobios aislados son los responsables de esas infecciones.[5]

La infección de la herida ocurre como consecuencia de la contaminación microbiana durante el curso de la cirugía y se completa con el desarrollo

bacteriano después del cierre de la incisión. Para ello, una variedad de factores promueven el desarrollo bacteriano dentro de la herida: abrasiones de la piel por rasurado inadecuado preoperatorio, tiempo operatorio prolongado, excesiva pérdida de sangre durante la operación, formación de hematomas, infección concomitante en un sitio distante a la herida quirúrgica, etc.,

Por lo cual la mayoría de medidas profilácticas empleadas en la prevención de la infección quirúrgica, muchas de las cuales permanecen aún hoy en el empirismo, están dirigidas a disminuir el grado de contaminación microbiana en la herida operatoria.

Estudios experimentales han demostrado que la causa de infección de la herida está relacionada con diversos factores, de los cuales el más importante es la magnitud del inoculo bacteriano; de tal manera que heridas contaminadas con más de 105 microorganismos frecuentemente desarrollan infección.

Las enfermedades asociadas con inmunosupresión o mala perfusión tisular, que impiden la actividad de las defensas locales del huésped, se vinculan también con un alto porcentaje de infección de la herida. Los antibióticos actúan en conjunción con los mecanismos de defensa locales (macrófagos) y con los reclutados en la herida (leucocitos polimorfonucleares, neutrófilos, complemento, anticuerpos), los cuales reducen el número de bacterias y previenen su proliferación impidiendo que se establezca la infección.

La inmunosupresión o un inadecuado nivel tisular de antibióticos o su empleo para gérmenes resistentes puede favorecer el desarrollo de infección aun con un bajo inoculo bacteriano. Por otra parte, incluso en un huésped normal, el antibiótico puede no ser suficiente para evitar el desarrollo de una infección si el inoculo bacteriano es extremadamente grande.

CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS

Producida la herida, se desencadena en todo su trayecto, de forma inmediata y espontánea una cascada de acontecimientos biológicos destinados a formar el tejido reparador que desde los bordes, ocupará el espacio de la lesión uniendo aquellos de forma estable y definitiva. En cualquier herida este tejido reparador es de carácter conectivo y su resultante final común constituirá una cicatriz evidente.

La herida produce respuestas metabólicas y fisiológicas en el tejido dañado, presentando ciertos eventos en el proceso de cicatrización que se dividen por fases las cuales son:[6]

a) **Fase Inflamatoria:** Iniciada en el mismo instante en que se produce la herida va del día 0 al día 5, de no darse circunstancias que la prolonguen (infección) la herida depende del material de cierre para fortalecerse como lo son las proteínas, las células sanguíneas, la fibrina y los anticuerpos. También se conoce como fase catabólica o desasimilativa ya que el resultado final de los mecanismos en ella implicados es una intensa destrucción fagocítica sobre los gérmenes como en los restos tisulares localmente acumulados por el efecto traumático.

La hemorragia local desencadena la activación del factor XII (F. Hageman) y éste a su vez pone en marcha a los factores de la coagulación para conseguir la hemostasia espontánea, a la cascada del complemento, al sistema de quininas y a la transformación de la plasmina en plasminógeno. Atraídos por estos los elementos formes penetran en el foco traumático procedente de los vasos dañados y capilares permeabilizados siguiendo un orden cronológico plaquetas → neutrófilos → monocitos/macrófagos → linfocitos T cooperadores aportando nuevas moléculas inductoras de las respuestas inflamatoria y reparadora.

[6] 3. SCHWARTZ, PRINCIPIOS DE CIRUGÍA. Cap. 5. Infecciones Quirúrgicas. Vol. I 8va. Edc. 2005. Pag:112-116

Esta oleada bioquímica y celular conducirá a los fenómenos comunes en un foco inflamatorio: microcirculatorios con vasodilatación y permeabilización capilar y enzimáticos dirigidos a la proteólisis celulares caracterizadas por la diapédesis, quimiotaxis y fagocitosis de neutrófilos y macrófagos. Su objetivo final es provocar lisis y remoción de las células destruidas, de los gérmenes colonizantes y de las moléculas conectivas que puedan interferir con el desarrollo y penetración del tejido reparador que a continuación deberá ocupar el seno de la herida y unir sus bordes.

Simultáneamente esto actúa sobre la puesta en marcha de los mecanismos responsables de formar el tejido de reaparición: proliferación endotelial o neoangiogénesis, fibroblástica y epitelial. Estos últimos grupos celulares serán quienes a continuación adquieran protagonismo, encontrándose supeditados a los efectos reguladores de las citosinas.

b) **Fase de Reparación:** La creación del tejido cicatrizal se fundamenta en 3 aspectos: neoangiogénesis, fibroplasia por crecimiento fibroblástico con síntesis de colágeno, proteoglicanos, y otros constituyentes de la matriz extracelular (fibronectina) y epitelización a partir de los queratinocitos situados en el estrato basal cutáneo.

Comienza hacia el 3 día solapándose con la respuesta inflamatoria que aún persiste también conocida como fase anabólica o asimilativa, por primar en ella las líneas y funciones celulares dirigidas a la síntesis tisular. Su período productivo o de fibroplasia, que se extiende hacia el cuarto día. Después es sucedido, durante meses, por un período de maduración en el que el tejido reparador primitivo y provisional, va siendo sustituido de forma paulatina, por uno definitivo y adaptado estructuralmente a las exigencias mecánicas del sector anatómico ya cicatrizado.

La contracción de la herida acontecimiento propio de las heridas que quedan abiertas facilita la reparación al ir reduciendo la superficie cruenta y

las necesidades de síntesis tisular. En resumen va del día 5 al día 14, la fibrina aumenta la fuerza tensil de la herida y estimula la proliferación y crecimiento de fibroblastos, estos a su vez unen los bordes y secretan el colágeno, proteína indisoluble que forma fibras en el tejido conectivo concomitantemente hay revascularización linfática y sanguínea.

Neoangiogénesis: La vasodilatación y los factores angiogénicos antes citados determinan la multiplicación de las células endoteliales capilares vecinas a los bordes de la herida. Esta proliferación va avanzando en el foco de la lesión hasta enlazar con los capilares del lado opuesto. Su penetración se ve facilitada por la proteólisis y despolimerización del tejido conectivo inflamado consiguiendo aportar a los fibroblastos el oxígeno y metabolitos precisos para su citocinética y síntesis molecular.

Fibroplasia: Ejercida por los fibroblastos, encargados de producir los constituyentes esenciales no celulares del tejido conectivo (fibras colágena, mucopolisacáridos o glucosaminoglucanos; fibronectina). Aquellas se originan en las células mesenquemáticas primitivas, Se multiplican y desplazan para colonizar toda la extensión de la herida acompañando a los capilares neoformados. La presencia de estas células en el foco de la lesión tiene lugar desde los días segundo o tercero, entremezclándose con las poblaciones inflamatorias antes descritas. Los fibroblastos llegan a ser dominantes en la herida a partir del décimo día. Después de la cuarta o quinta semana su número irá descendiendo, al igual que el de los capilares neoformados, para que en la cicatriz definitiva predomine la sustancia intercelular fibrilar (colágeno) y no fibrilar (glucosaminoglicanos).

Colágeno: estructura y función: La actividad básica de los fibroblastos es depositar la matriz conjuntiva del tejido de reparación capaz de otorgar a la cicatriz una adecuada resistencia mecánica. De no lograrlo el foco de lesión volverá a abrirse pese a haber sido sometido a una sutura correcta, la sutura solo proporciona una resistencia tensil temporal e

insuficiente sino es acompañada por una respuesta fibroplásica normal. El colágeno es la proteína más abundante en el organismo y sus mayores cantidades se encuentran en la piel (30% del total) y en los huesos (40% del total).

Sustancia fundamental: (componente estructural no fibrilar): Como elemento de cimentación entre los fibroblastos y las fibras de colágena se dispone la sustancia fundamental de cualquier tejido conectivo. La cicatriz está compuesta por glucoproteínas fibrosas y glucosaminoglicanos o mucopolisacáridos ácidos, contando además con la presencia de agua. Las glucoproteínas tienen su origen en la reacción inflamatoria previa mediante el plasma extravasado y los residuos conectivos resultantes de la proteólisis y fagocitosis.

EPITELIZACIÓN: Este fenómeno es mínimo en lesiones sometidas a suturas, quedando limitado a la línea en que los bordes se coaptan. Resulta más evidente en aquellos que granulan con lentitud, en las que el epitelio progresa desde los bordes cubriendo la superficie granulante.

En estas lesiones abiertas las células epiteliales o queratinocitos cutáneos ofrecen intensa actividad mitótica y de desplazamiento. Dicho dinamismo se atribuye a la acción moduladora de las citosina destacando junto a ellas el factor de crecimiento epidérmico de procedencia plasmática.

Actúa como reguladora de fenómenos de crecimiento y diferenciación estableciendo su mensaje sobre receptores específicos presentes en las membranas celulares. También influye sobre fibroblastos y células endoteliales, acentuando las interrelaciones existentes entre los diversos grupos celulares responsables de la reparación celular. Cuando el epitelio regenerado en su progresión centrípeta contacta con el procedente del borde opuesto, entre las células de ambos se establecen sistemas de

anclaje que darán continuidad definitiva. Ello no sucede si el contacto tiene lugar con células de diferente estirpe (fibroblastos)

c) **Fase de Maduración y Remodelación:**

Aunque la herida ya se encuentra cerrada por tejido cicatricial y la cubierta epitelial, la cicatriz deberá adquirir una adecuada resistencia que impida su dehiscencia o reapertura ante exigencias mecánicas comunes. Por ello el material de sutura quirúrgica se debe mantener durante plazos variables pero suficientes para que después de su desaparición el tejido reparado no se abra.

Cuando se efectúa una sutura se observa que durante las 6 primeras horas casi no existe impedimento para la penetración bacteriana a partir de este momento el tejido epitelial va ganando resistencia al paso de los gérmenes, que se hace similar a la de la piel normal al cabo de 3 a 5 días. Las fibras colágenas de este tejido cicatricial carecen de una orientación espacial adecuada frente a las tracciones y fuerzas mecánicas que recaen sobre la región anatómica en que asientan. En las semanas siguientes y durante meses la cicatriz experimentara una progresiva ganancia de resistencia al ser sustituidas aquellas fibras por otras debidamente dispuestas, a la par que en ellas tiene lugar un incremento de enlaces covalentes.

La cicatriz experimenta un equilibrio dinámico entre la síntesis y degradación de colágeno de cuyo prolongado recambio dependerá su remodelado y resistencia final.

Esta fase va del día 14 hasta la cicatrización total, hay una lentificación como el proceso de fibroplasia pero aumenta la fuerza tensil por el entrecruzamiento de las fibras de colágeno.

Teniendo en cuenta las fases de cicatrización de una herida, tenemos que el cierre de la misma se divide en tres tipos:[7]

REPARACIÓN PRIMARIA: Es el cierre inicial de una herida por incisión aséptica y con aproximación exacta, con mínimo edema y ningún signo de infección local, la cicatrización y epitelización se desarrollan en el menor tiempo posible y con menor incidencia de secuelas.

REPARACIÓN SECUNDARIA: Aquellas heridas que no habiendo sido suturadas, deben de curar por el crecimiento del tejido conectivo reparador desde sus bordes, hasta que el mismo ocupe todo el lecho de la lesión y sea cubierto por el nuevo epitelio. Este proceso es más propenso a complicarse y ofrece peores resultados estéticos y funcionales.

El tejido granuloso se forma defectuoso, por ejemplo en presencia de infección, trauma severo, avulsión de tejido, por lo tanto el cierre se da por contracción de la herida con un crecimiento secundario del epitelio, el proceso de cicatrización es muy lento y la formación de cicatriz es excesiva.

CIERRE TERCIARIO (Cierre primario retardado): El tiempo óptimo para un cierre demorado es de 4 a 6 días después de producida la herida, la cicatriz es generalmente más profunda y ancha. Se da cuando se unen dos superficies de tejido granuloso; constituye un método seguro para reparar heridas sucias, contaminadas y traumáticas.

EPIDEMIOLOGÍA:

El desarrollo de una IHQ depende de numerosos factores, algunos de los cuales dependen del paciente, otros del medio ambiente y del tratamiento. “De acuerdo con la clasificación del NNIS, el riesgo de IHQ

[7] 2. SABISTON. Tratado de Patología Quirúrgica. Cap. 8. Vol I pag: 183-205

aumenta en proporción con el número de factores de riesgo presentes, independientemente de la contaminación de la incisión y del tipo de operación”

1.- Por parte del Germen: Influyen

a) Tamaño del Inóculo.

b) Virulencia

2.- Por parte del Paciente:

EDAD: Los extremos de la vida se han asociado más frecuentemente a infección de la herida quirúrgica, se habla de la mayor incidencia (37%) por encima de los 65 años quizás a causa de disminución de la capacidad inmunitaria.

OBESIDAD: Está asociada al mayor espacio muerto subcutáneo que frecuentemente queda en estos pacientes, así como menor riego sanguíneo y tasa de intercambio del tejido graso. La tasa de infección es de 13.5%.

ENFERMEDADES PRE-EXISTENTES: Aumentan el riesgo en relación directa con la severidad y cronicidad de la patología. Ejemplos: diabetes, neoplasias, alcoholismo, cirrosis etc.[8]

DESNUTRICIÓN: Los enfermos quirúrgicos están sometidos a una situación de estrés y la respuesta hepática esta desviada hacia la síntesis de proteínas de fase aguda a expensas de la albúmina y cuando esta última representa menos del 50 % de las proteínas, la frecuencia de infección es mucho mayor de 17%.[11]

TABAQUISMO: La incidencia es mayor en los fumadores aunque esto no se encuentra bien sustentado en la bibliografía.

---

[8] 5. ACEITUNO ESAPAÑA, MARUIN LEONEL. Infección de Herida Operatoria en pacientes postoperados de cirugía electiva. Tesis de médico cirujano. Universidad San Carlos Guatemala. 1992.

INFECCIONES A DISTANCIA: La presencia de infección distante es del 16%.

La American Society or Anesthesiology asigna una puntuación del estado físico del paciente antes de la cirugía.

PUNTUACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LA AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGY (ASA)	
ASA 1	Paciente sano normal
ASA 2	Paciente con alteración sistémica leve o moderada, que no causa limitaciones funcionales. Ej: HTA, Diabetes mellitus, Bronquitis crónica, Obesidad patológica, Edad extrema.
ASA 3	Paciente con alteración sistémica grave, que conduce a limitaciones funcionales. Ej: HTA mal controlada, Diabetes Mellitus con complicaciones vasculares, Angina de pecho, Infarto de miocardio previo, Enfermedad Pulmonar que limita la actividad.
ASA 4	Paciente con trastorno sistémico grave, en potencia letal, en el que se plantea o no una intervención. Ej: ICC, Angina de pecho inestable, Disfunción pulmonar, renal o hepática avanzada.
ASA5	Paciente en mal estado, que probablemente no sobreviva ni con ni sin intervención quirúrgica. Ej: rotura de aneurisma aórtico abdominal, embolismo pulmonar, lesión cefálica con presión intracraneal aumentada.
ASA 6	Cualquier paciente en el que la intervención quirúrgica se considere urgente. Ej: ASA 4E

Datos del NNIS Data sumary from January 1992-Junio 2001, issued August 2001. Am J Infect Control 2001; 29:404-21.

3.- Inherentes a la Intervención Quirúrgica:

a) Duración de la intervención: El riesgo de la infección de la herida quirúrgica aumenta en relación directa al tiempo del procedimiento. La tasa de infección aumenta de 2.07% a 9.4% si la cirugía sobrepasa los sesenta minutos.

b) Número de personas presente en el quirófano.

c) Urgencia de la intervención.

d) Perforación de los guantes quirúrgicos.

4.- Inherentes a la Técnica Quirúrgica:

a) Falta de asepsia estricta.

b) Hemostasia exagerada con electrocauterio.

c) Isquemia e hipoxia de los tejidos.

d) Presencia de: espacios muertos, cuerpos extraños y drenes.

5.- Inherentes a la hospitalización:

a) Estancia preoperatoria mayor de 5 días.

b) Salas con elevado número de enfermos.

c) Gran cantidad de visitas.

d) Falta de asepsia de las curaciones.

e) Manejo inadecuado del aislamiento.

En el siguiente cuadro se resume los factores de riesgo relacionados con infección de la herida quirúrgica:

FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE INFECCIONES DE LA HERIDA QUIRÚRGICA		
DEL PACIENTE	**MEDIO AMBIENTE**	**DEL TRATAMIENTO**
Ascitis Inflamación Crónica Terapia con Corticoides Obesidad Diabetes Extremos de edad Hipocolesterolemia Hipoxemia Enfermedad vascular periférica Anemia postoperatoria Irradiación del sitio previo Intervención resiente Infección remota Colonización estafilocócica de la piel Enfermedad cutánea en el área de infección (ej. Psoriasis) Nutrición deficiente	Desinfección/esterilización inadecuada Antisepsia cutánea inadecuada Ventilación inadecuada	Drenajes Procedimiento urgente Hipotermia Profilaxis antibiótica incorrecta Oxigenación (discutible) Hospitalización preoperatoria prolongada Duración prolongada de la operación.

Datos del NNIS System Report: Data summary from January 1992-june 2001, issued August 2001. Am J Infect Control 2001; 29:404-21.

ETIOLOGÍA:

La infección de la herida quirúrgica es consecuencia de la contaminación previa de las mismas, la cantidad y clase de microorganismos que la alcanzan, depende del tipo de intervención y de la topografía sobre la que se realiza.

Existen varias vías de contaminación, pueden ser fuentes el personal o instrumentos del quirófano, así como también la flora propia del huésped o la involucrada en focos de infección previa. Las contaminaciones exógenas son la causa más frecuente en cirugía limpia y las endógenas en la cirugía contaminada o sucia. “En todos los casos no hay que olvidar que aunque se efectúe antisepsia de la piel adecuadamente en los folículos y glándulas sebáceas, está un 20% de la flora cutánea que difícilmente puede ser erradicada”[3].

La cirugía Laparoscópica se asocia con una incidencia disminuida de IHQ bajo ciertas circunstancias. Para la cirugía biliar, gástrica y de colon se resta un factor de riesgo si la operación se realiza a través de laparoscopia. Debido a que la cirugía laparoscópica disminuye el riesgo de IHQ por varias razones: Tamaño menor de la herida, uso limitado de coagulación en la pared abdominal y respuesta de estrés disminuido a la lesión tisular. La apendicectomía laparoscópica es un caso especial si existe algún factor de riesgo (perforación o si el procedimiento dura más de 1 hora) se pierde la ventaja.

MICROBIOLOGÍA:

Durante la cirugía se produce el inóculo de la herida quirúrgica, hacia dentro desde la piel o hacia fuera desde el órgano interno operado lo que proporciona una base racional para la preparación cutánea, la preparación intestinal con antisépticos o antibióticos y la administración profiláctica de

antibióticos por vía oral o parenteral. La microbiología de la IHQ depende del tipo de operación realizada, con aumento de la probabilidad de infección por bacilos gran negativos después de la cirugía gastrointestinal. “Si embargo, la mayoría de las IHQ están causadas por cocos gram positivos como S. aureus, estafilococos coagulasa negativos (S. epidermidis) y especies de Enterococcus, gérmenes que en su mayor parte proceden de la piel. En la cirugía de cabeza y cuello (cuando se penetra en estructuras faringoesofágicas), y en los casos de cirugía intestinal, pueden causar IHQ las bacterias entéricas aerobias (Ej: E. coli) y anaerobias (Bacteroides fragilis)”[3]

MICROBIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN DE LA HERIDA QUIRÚRGICA	
PATÓGENO	**PREVALENCIA (% AISLADOS)**
Staphylococcus	19
Staphylococcus coagulasa negativo	14
Especies Enterococcus	12
Escherichia coli	8
Pseudomonas aeruginosa	8
Bacilos gram negativos aerobios diversos	8
Especies Enterobacter	7
Especies Streptococcus	6
Especies Klebsiella	4
Bacterias anaerobias diversas	3
Bacterias gram positivas aerobias diversas	2

Datos de Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin Microbiol. Rev 1993;6:428-42.

Las bacterias son genéricamente divididas en dos grupos, aerobias y facultativas, por un lado, y anaerobias, por el otro, a su vez agrupadas en cocos y bacilos gran positivos y gran negativos.

COCOS GRAM POSITIVOS:

Los cocos gran positivos de importancia quirúrgica son el estafilococo y el estreptococo. Los estafilococos están divididos en coagulasa-positivos y coagulasa-negativos. Se presentan aislados, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Crecen con facilidad en agar-sangre, su desarrollo más característico ocurre en aerobiosis y las colonias son de tamaño pequeño a moderado. Su actividad hemolítica es variada y algunas cepas pueden presentar una corona de hemolisis.

Los estafilococos coagulasa-positivos corresponden a Staphylococcus aureus y son los patógenos más comunes asociados con infecciones de heridas no sujetas a contaminación endógena. En esta década, la mayoría de los estafilococos coagulasa-positivos deben ser considerados resistentes a la penicilina y requieren tratamiento con antibióticos penicinilasa resistentes.

El extenso uso de antibióticos beta lactámicos penicilinasa resistentes en las últimas dos décadas ha provocado la emergencia de estafilococos dorados meticilino resistentes (EAMR). Estos microorganismos no tienen intrínsecamente mayor patogenicidad que los otros estafilococos, pero son más difíciles de tratar por su resistencia a los antibióticos. Son especialmente comunes en casos de endocarditis asociadas con el uso de drogas endovenosas. Deben ser tratados con vancomicina o un agente similar.

El estafilococo coagulasa-negativo (Staphylococcus epidermidis), habitualmente encontrado en la flora normal de la piel, fue considerado por muchos años contaminante e incapaz de provocar una enfermedad grave. Sin embargo, estudios clínicos serios han demostrado lo contrario, y es frecuente hallarlo en pacientes que han sufrido trauma o procedimientos quirúrgicos complejos y en quienes tienen dispositivos intravasculares. Son

los microorganismos más comunes recuperados en la bacteriemia nosocomial, endocarditis, infecciones protésicas, prótesis vasculares y mediastinitis posquirúrgicas. La mayoría de los estafilococos coagulasa-negativos son meticilino resistentes, y de indicarse una terapia empírica, debería ser con vancomicina.

Las especies de estreptococos comprenden el estreptococo (B-hemolítico, S. pneumoniae, α-hemolítico y enterococo. Las primeras tres especies son sensibles a la penicilina G y la mayoría de los otros antibióticos beta-lactámicos. El estreptococo-b-hemolítico, recuperado con poca frecuencia de las infecciones de heridas de partes blandas, puede por sí solo causar infecciones amenazantes para la vida. Streptococcus pneumoniaees el germen más común de neumonía adquirida en la comunidad, pero es el patógeno menos frecuente en pacientes quirúrgicos hospitalizados. El estreptococo α-hemolítico (S. viridans), comúnmente encontrado en las mucosas y en la piel, puede ser recuperado de la cavidad peritoneal después de perforaciones gastrointestinales altas, pero raramente se lo encuentra como principal agente causal en infecciones quirúrgicas significativas.

La importancia del enterococo en la infección quirúrgica es controvertida.
Comúnmente se lo obtiene integrando una flora mixta en infecciones intra abdominales, y es raro aislarlo solo. En modelos animales de infección, el enterococo claramente puede incrementar la virulencia de otras bacterias. La bacteriemia por este microorganismo en asociación con una infección quirúrgica indica serio compromiso de las defensas del huésped y constituye un signo de grave pronóstico por sí mismo. Un solo antibiótico puede resultar poco seguro para erradicar infecciones profundas o bacteriemia, y es más confiable la asociación antibiótica de Gentamicina con alguna Penicilina o Vancomicina.

BACILOS AEROBIOS FACULTATIVOS:

Gran variedad de bacilos gran negativos están asociados con infecciones quirúrgicas. Muchos de ellos están incluidos en la familia de las enterobacteriáceas y comprenden los géneros Escherichia coli, Proteus y Klebsiella. Son considerados juntos porque es relativamente común encontrarlos así en infecciones quirúrgicas y, además, porque son relativamente sensibles a una amplia variedad de antibióticos, especialmente cefalosporinas de primera y segunda generación. Otros géneros dentro de las enterobacterias, también comunes en el tema que nos ocupa, son Enterobacter, Morganella, Providencia y Serrada. Estos gérmenes presentan en general gran resistencia antibiótica. La terapéutica antibiótica empírica dirigida a esos microorganismos requiere cefalosporinas de tercera generación, penicilinas de amplio espectro, monobactamos, carbapenemes, quinolonas o aminoglucósidos.

Es más frecuente encontrarlos en infecciones adquiridas en él hospital e infecciones quirúrgicas postoperatorias. Los Bacilos gram negativos aerobios, como especies de Pseudomonas y Acinetobacter, se encuentran más comúnmente en neumonías hospitalarias, y en pacientes quirúrgicos pueden aislarse de la cavidad peritoneal o de infecciones severas de partes blandas. Estas especies son resistentes a los antibióticos, por lo cual requieren tratamientos específicos con ceftazidima, aztreonam, imipenem, ciprofloxacina, y aminoglucósidos. Una significativa proporción de esos gérmenes son resistentes, por lo cual se aconseja comenzar con una terapia empírica basada en la asociación de dos antibióticos antes de conocer la sensibilidad.

ANAEROBIOS:

Las bacterias anaerobias son las más numerosas dentro del tracto gastro intestinal normal. Los gérmenes anaerobios pueden definirse por tres características básicas:

1) crecen mejor en ausencia de aire que en su presencia;
2) son incapaces de multiplicarse a partir de un pequeño inoculo, salvo que el potencial de oxidorreducción del medio sea bajo;
3) mueren en contacto transitorio con el oxígeno atmosférico.

Se las puede clasificar sobre la base de su capacidad de esporular, su morfología, su manera de colorearse con el método de Gram y sus características ecológicas. Existen también clasificaciones de tipo mixto en que se tienen en cuenta dos o más de las características anteriores. Se admiten cuatro grupos que se adaptan bastante bien a la clínica:

• Grupo de los clostridios.
• Grupo de los bacteroides.
• Grupo de los cocos anaerobios estrictos.
• Grupo de las corinebacterias.

Según su crecimiento y desarrollo en presencia de oxígeno, se distinguen:

1) **Anaerobios estrictos**: incapaces de crecer en placas de agar en presencia de niveles de oxígeno superiores al 0,5 %.
2) **Anaerobios moderados:** especies capaces de crecer en presencia de concentraciones de oxígeno de 2-8 %, y que pueden sobrevivir 60-90 minutos en el aire atmosférico sin pérdida de viabilidad apreciable.
3) **Microaerófilos:** capaces de crecer en un medio de cultivo con una atmósfera de C02 del 10 % y de sobrevivir algunas horas en el aire atmosférico; pueden recuperarse en cultivos cuando se siembran.
4) **Aerotolerantes:** una vez cultivados pueden permanecer viables en presencia de oxígeno por muchas horas.

En líneas generales admitimos que las infecciones por anaerobios son producidas por dos grandes grupos de gérmenes:

a) **Gérmenes anaerobios simbióticos:** aquellos que viven en la superficie del organismo (piel y cavidades naturales) y no suelen provocar trastornos, adquiriendo el carácter de anaerobios al asociarse con otros gérmenes.

b) **Gérmenes anaerobios telúricos:** los que se encuentran en la naturaleza (capas superficiales del suelo) y en menor proporción en el intestino grueso de los animales y del hombre. Producen endosporas a veces de extraordinario tamaño.

Entre los principales gérmenes del grupo de los simbióticos hay que destacar los siguientes:

• **Los estafilococos anaerobios:** Staphylococcus aerogenes es productor de gas y de un número determinado de toxinas. Staphylococcus putrifices ocasiona putrefacción y, por lo tanto, importantes destrucciones tisulares.

• **Los estreptococos anaerobios:** Se destacan Streptococcus putridus, con marcado efecto proteolítico y S. Streptococcus fetidus, que produce un olor nauseabundo. Ambos se diferencian del grupo anterior en que no son productores de toxinas.

• **Grupo del coli común:** Abunda en los aparatos digestivo y urinario. Son también productores de olor fétido, así como de sustancias de alto poder tóxico.

• **Grupo de los Proteus:** Se distingue entre ellos el Proteus vulgaris, que produce fermentos proteolíticos y toxinas. Es muy abundante sobre todo en las cavidades genitales.

Dentro del grupo de los gérmenes telúricos se encuentra el grupo de los Clostridios, algunos de los cuales son los de mayor toxicidad y capacidad letal para el organismo humano. Son bacilos grandes gran positivos y forman

esporas de gran tamaño, que incluso supera el del propio bacilo, por lo cual en conjunto adquieren el aspecto de maza. Otra propiedad es la posibilidad de tener flagelos. Las infecciones producidas por clostridios son de gran interés quirúrgico. Estas infecciones pueden tener un origen postraumático o postoperatorio, así como visceral, y pueden además producir septicemias y bacteriemias.

Existen cerca de 100 especies diferentes, pero solamente una décima parte tienen interés en patología humana. Además del Cl. tetani y del Cl. botulínico, que son productores de toxinas, el resto de los clostridios tienen la particularidad de producir gangrena gaseosa. Entre los principales clostridios cabe citar:

-Cl. perfringens
-CL oedematiens
-Cl. septicum
-Cl. novyi
-Cl. Histolyticum

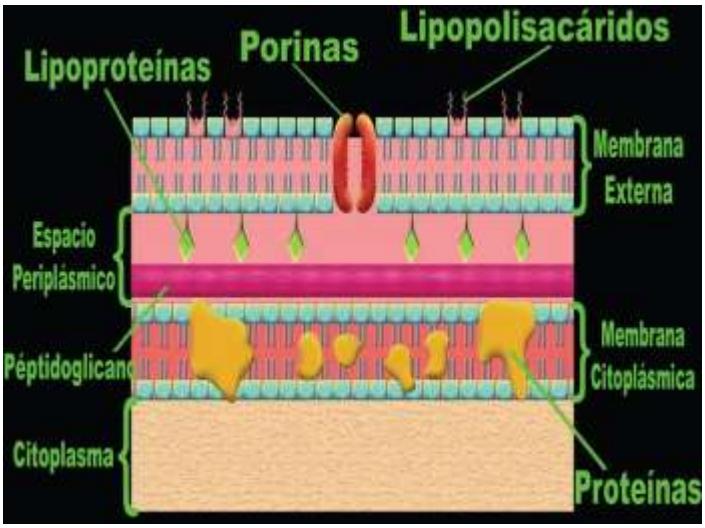
1) **Clostridium perfringens**: Es un germen que se encuentra muy difundido en la naturaleza y aparece en el 100 % de las muestras de tierra y en el 90 % de las gangrenas. Produce fermentos proteolíticos y sacarolíticos que dan lugar a necrosis tisular y fermentación de azúcares, respectivamente, así como fermentos lipolíticos destructores de las grasas. La producción de toxinas es otra de las características del bacilo, y cabe citar entre ellas a la hemolisina, miotoxina, neurotoxina y una toxina de acción general. También se reconoce la existencia de un factor de difusión en el germen, que es importante para la acción a distancia y extensión de las toxinas.

2) Clostridium oedematiens o de Novy: Se encuentra en el 70 % de las muestras de tierra, y causa edema a nivel de las heridas, en las que se observa en el 40 % de los casos. Es un germen que produce pocos fermentos y no suele mostrar mucha agresividad.

3) Clostridium septicum o vibrión séptico de Pasteur: Aparece sólo en el 10% de las muestras de tierra analizadas. Produce fermentos proteolíticos y una toxina hemolítica.

4) Clostridium histolyticum: Poco frecuente en las muestras de tierra (2 %), así como en las heridas. Cuando aparece, lo suele hacer asociado a otros clostridios. Produce un fermento de efectos histolíticos sobre el tejido conjuntivo y una toxina de acción general.

MODOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS
ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS:



Pared Celular:

- La membrana externa sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y ayuda a retener proteínas en el espacio periplásmico. (Algunos autores no consideran a esta membrana como parte de la pared celular.)

- Porinas son canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula, incluyendo agentes antimicrobianos. Las bacterias varían en el número y tipo de porinas que contienen.

- Lipopolisacáridos se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad y dan a las bacterias gram-negativas su carga negativa neta.

- Lipoproteínas adhieren la membrana externa a la capa de mureina.

- La capa de péptidoglicano de las bacterias gram-negativas es un polímero relativamente delgado que consiste de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureína o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo. Está localizado dentro del espacio periplásmico.

- El espacio periplásmico se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos, enzimas hidrolíticas y enzimas detoxifi cantes.

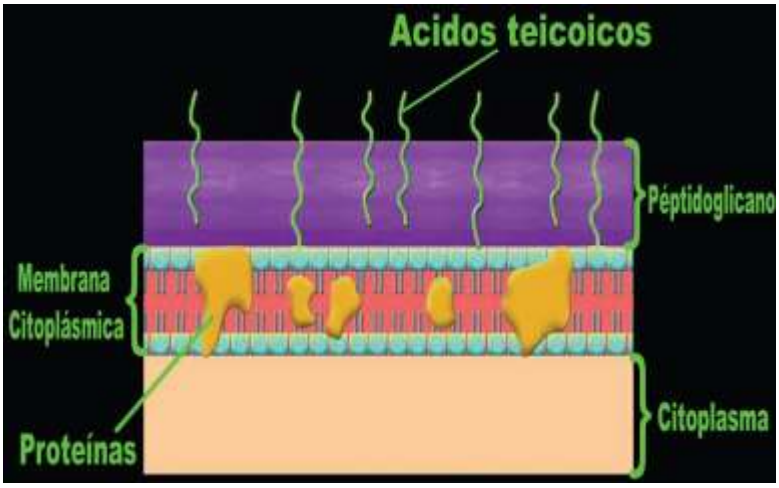
Membrana Citoplásmica:

La membrana citoplásmica rodea el citoplasma de la célula y contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular. La membrana citoplásmica también sirve como una barrera de permeabilidad y un enlace de permeabilidad para las substancias que entran en la célula.

Citoplasma y Otros Componentes Internos:

El citoplasma celular contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas. La gran mayoría de bacterias tiene un solo cromosoma pero unas pocas, como el Vibrio cholerae , tiene dos cromosomas.

ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS:



Pared Celular:

Puesto que la pared celular de las bacterias gram-positivas contiene solo dos componentes principales es mucho menos complicada que la pared celular de las gram negativas.

- Ácidos teicoicos son polímeros que están entrelazados en la capa de péptidoglicano y se extiende en forma de cilios más allá de la superficie de las células gram-positivas. Estos son también importantes antígenos de superficie en aquellos organismos que los poseen.
- La capa de péptidoglicano , o capa de mureína, de las bacterias gram-positivas es mucho más gruesa que la de las bacterias gram-negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como la pared celular.

La Membrana Citoplásmica, Citoplasma, y Otros Componentes Internos:

Estas estructuras son muy similares tanto en bacterias gram-positivas como en gram-negativas.

AGENTES ANTIMICROBIANOS

Agentes Bacteriostáticos vs. Bactericidas:

Los agentes bacteriostáticos tales como tetraciclina inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias. A partir de la exposición a un agente bacteriostático, las células en una población susceptible cesan su división. Sin embargo, si el agente esretirado, las células vuelven a multiplicarse.

Los agentes bactericidas, como las fluoroquinolonas, no solo inhiben el crecimiento de las células sino también desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular. Las acciones de los agentes bactericidas son irreversibles por tanto una vez que las células susceptibles son expuestas al agente bactericida, estas mueren.

Modos de Acción de los Antimicrobianos:

Los agentes antimicrobianos se clasifican de acuerdo a sus modos específicos de acción contra las células bacterianas. Estos agentes pueden interferir con la síntesis de la pared celular, inhibir la síntesis de proteínas, interferir con la síntesis de ácido nucléico, o inhibir una ruta metabólica.

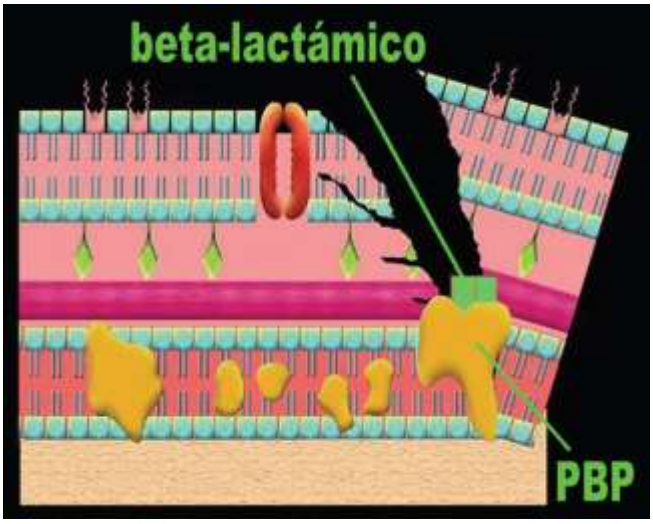
Los modos de acción de los agentes antimicrobianos contra las bacterias gram-positivas y gram-negativas son muy similares[9].

- **Interferencia con la Síntesis de la Pared Celular**: Bloquean la síntesis del péptidoglicano y por tanto son activos contra bacterias en crecimiento. (bactericidas).

[9] 24. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana / autores, Stephen J. Cavalieri ... [et al.] ; editora coordinadora, Marie B. Coyle.

• **Actividad de los beta lactámicos en bacterias gram-negativas**: En las bacterias gram-negativas, los antimicrobianos beta lactámicos entran a la célula a través de los canales porínicos de la membrana externa. En las células susceptibles, las moléculas beta-lactámicas se unen a las proteínas de unión de penicilina (PBPs) que son enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular. La unión de las moléculas beta-lactámicas a las PBPs, ubicadas en la superficie de la membrana citoplásmica, bloquea su función. Esto produce paredes celulares debilitadas o defectuosas y conduce a lisis celular y muerte.

• **Actividad de los beta lactámicos en bacterias gram-positivas**: Puesto que las bacterias gram-positivas no poseen una membrana externa, los antimicrobianos beta lactámicos se difunden a través de la pared celular. Los siguientes pasos son similares a aquellos para las bacterias gram-negativas. En las células susceptibles, las moléculas beta-lactámicas se unen a las PBPs, lo que resulta en paredes celulares debilitadas y lisis celular.



• **Interferencia con la membrana citoplásmica**: Las moléculas de polimixina se difunden a través de la membrana externa y pared celular de células susceptibles hacia la membrana citoplásmica. Estas se unen a la membrana citoplásmica y la alteran y desestabilizan. Esto causa el derrame del citoplasma hacia el exterior de la célula lo que resulta en muerte celular.

Los agentes antimicrobianos que interfieren con la membrana citoplásmica son bactericidas.

- **Interferencia con la síntesis de proteínas mediante el enlace a la subunidad ribosómica 30S:**

- Los aminoglucósidos se unen a la subunidad 30S del ribosoma y pueden bloquear la síntesis de proteínas de dos maneras diferentes. En primer lugar estos se pueden adherir a la subunidad 30S del ribosoma y prevenir que la subunidad 30S se adhiera al RNA mensajero (mRNA). Segundo, la presencia del aminoglucósido en el ribosoma podría provocar la lectura errada del mRNA. Esto resulta en la inserción de aminoácidos erróneos en la proteína o en la interferencia con la capacidad de los aminoácidos para conectarse unos con otros. Estas actividades por lo general ocurren de manera simultánea y el efecto total es bactericida.

- **Inhibición de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad ribosómica 50S.**

- Los macrólidos (eje. eritromicina, azitromicina y claritromicina) y las lincosámidas (eje. clindamicina) se adhieren a la subunidad ribosómica 50S provocando la terminación del crecimiento de la cadena proteica y la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos son primordialmente bacteriostáticos.

- Las fluoroquinolonas (eje. ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y gemifloxacina) interfieren con la síntesis de ADN bloqueando la enzima ADN girasa. La ADN girasa ayuda a enrollar y desenrollar el ADN durante la replicación de ADN. La enzima se adhiere al ADN e introduce rupturas dobles en las cadenas que permiten al ADN desenrollarse. Las fluoroquinolonas se unen al complejo ADN girasa-ADN y permiten a las

cadenas de ADN rotas liberarse dentro de la célula lo que conduce a la muerte celular.

- **Inhibición de la ruta metabólica de la síntesis de ácido fólico causada por sulfonamidas y trimetoprima**: Para muchos organismos el ácido para-amino benzoico (PABA) es un metabolito esencial y está involucrado en la síntesis de ácido fólico, un importante precursor para la síntesis de ácidos nucleícos. Las sulfonamidas son estructuras análogas del PABA y compiten con el PABA por la enzima dihidropteroata sintetasa. La trimetoprima actúa en la ruta de síntesis del ácido fólico en un punto posterior al de las sulfonamidas. Este inhibe la enzima dihidrofolato reductasa. La trimetoprima y las sulfonamidas se pueden usar por separado o en conjunto. Cuando se usan en conjunto producen un bloqueo secuencial de la ruta de síntesis del ácido fólico y tienen un efecto sinérgico. Tanto la trimetoprima como las sulfonamidas son bacteriostáticas.

MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Hay una serie de formas en que los microorganismos son resistentes a los agentes antimicrobianos. Estos incluyen:

1) La bacteria produce enzimas que destruyen el agente antimicrobiano antes que este alcance su blanco o módica el agente antimicrobiano de tal forma que ya no puede ser reconocido por su blanco;

2) La pared celular se vuelve impermeable al agente antimicrobiano;

3) El sitio de ataque es alterado por mutación de tal manera que ya no permite la unión del agente antimicrobiano;

4) La bacteria posee una bomba de eflujo que expele al agente antimicrobiano de la célula antes que este alcance su blanco;

5) Rutas metabólicas específicas dentro de la bacteria son alteradas genéticamente para que el agente antimicrobiano no pueda provocar un efecto.

Producción de Enzimas:

- Las beta-lactamasas son enzimas que hidrolizan los agentes antimicrobianos beta-lactámicos. Como resultado la célula es resistente a la acción de los medicamentos beta-lactámicos

- En las bacterias gram-negativas los medicamentos beta -actámicos entran en la célula a través de las porinas y encuentran a las beta-lactamasas en el espacio periplásmico. Las beta-lactamasas destruyen las moléculas beta-lactámicas antes de que éstas tengan la oportunidad de alcanzar sus PBPs blancos.
- En las bacterias gram-positivas las beta-lactamasas son secretadas extracelularmente en el medio circundante y destruyen las moléculas beta-lactámicas antes que estas tengan oportunidad de entrar en la célula.

- Las bacterias gram-negativas pueden producir enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que modifican un aminoglucósido para inactivarlo. También producen la acetil transferasa que modifica al cloranfenicol para inactivarlo.

Impermeabilidad de la Membrana Bacteriana Externa

- Alteración de porinas en bacterias gram-negativas:

- Las bacterias gram-negativas pueden volverse resistentes a los antibióticos beta-lactámicos mediante el desarrollo de barreras de permeabilidad. Esto es usualmente provocado por porinas alteradas en la membrana externa que ya no permiten la entrada y el tránsito de las moléculas del antibiótico dentro de la célula. Cuando los beta-lactámicos no pueden alcanzar las PBPs, la célula es resistente.

- Alteración de los Blancos

- Las PBPs tanto en bacterias gram-positivas y gram-negativas pueden ser alteradas mediante mutación de manera que los beta-lactámicos no puedan unirse a ellas; por tanto la célula es resistente a agentes antimicrobianos.

- La metilación del ARN ribosómico confiere resistencia a los macrólidos.

- ADN girasa y topoisomerasa confieren resistencia a las quinolonas.

Bombas de eflujo:

El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas trans membrana insertadas en la membrana citoplásmica y, en el caso de los organismos gram-negativos involucra también componentes en la membrana externa y periplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra.

Alteración de Rutas Metabólicas:

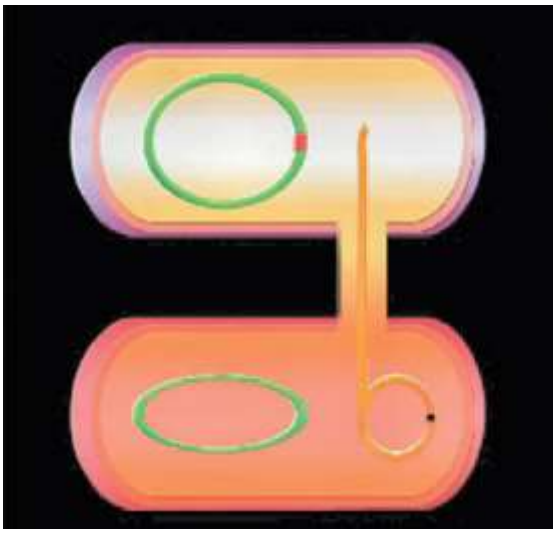
Algunos microorganismos desarrollan una ruta metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el antimicrobiano. Mutaciones que inactivan la timidilato sintetasa bloquean la conversión de deoxiuridilato a

timidilato. Estos mutantes requieren timina o timidina exógena para la síntesis de ADN y por ende son resistentes a los antagonistas de la ruta del folato como las sulfonamidas y trimetoprima.

RESISTENCIA INTRÍNSECA VS. ADQUIRIDA

En algunas especies la resistencia antimicrobiana es una propiedad intrínseca o innata. Esta resistencia intrínseca podría deberse a uno o más de los mecanismos de resistencia anteriormente descritos. Por ejemplo, E. coli es intrínsecamente resistente a la vancomicina porque la vancomicina es demasiado grande para pasar a través de los canales de porinas en sus membrana externa. Las bacterias gram-positivas, en cambio, no poseen una membrana externa y por lo tanto no son intrínsecamente resistentes a la vancomicina.

Las bacterias también pueden adquirir resistencia a los agentes antimicrobianos por eventos genéticos como mutación, conjugación, transformación, transducción y transposición.



Plásmido entrando a una Célula

- **Mutación.** La resistencia cromosómica se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un determinado agente antimicrobiano. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia relativamente baja, pero cuando las bacterias son expuestas a los agentes antimicrobianos, solo las células mutantes sobreviven. Entonces estas se multiplican y resultan en la aparición de una población resistente. Las mutaciones espontáneas también podrían ocurrir en plásmidos.

- **Conjugación:** Las bacterias con frecuencia contienen elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos, muchos de los cuales llevan genes de resistencia antimicrobiana. Cuando dos células bacterianas se encuentran cerca, una estructura similar a un puente conocida como pilus se puede formar entre ellas. Esto permite que una copia del plasmido se replique y transfiera de una célula a la otra. El resultado es una bacteria que expresa la resistencia antimicrobiana codificada en el plásmido.

- **Transformación:** Las bacterias podrían encontrar fragmentos desnudos de ADN que transportan genes de resistencia antimicrobiana. Estos fragmentos son introducidos en la célula mediante un proceso denominado transformación. El fragmento de ADN es incorporado en el cromosoma de la célula huésped por recombinación y la célula resultante es resistente.

- **Transducción**: Cuando los virus bacterianos (bacteriófagos) se están multiplicando en el citoplasma de una bacteria, fragmentos de ADN de plásmidos o cromosomas podrían por casualidad empacarse en una cápsula viral y entrar en otra célula huésped. Cuando los fragmentos contienen genes de resistencia a un agente antimicrobiano estos pueden traspasar la resistencia a la nueva célula huésped.

- **Transposición:** Los transposones son secuencias genéticas especializadas “mó-viles” que tienen la capacidad de moverse de un área del cromosoma bacteriano a otra o entre cromosomas y plásmidos o ADN de

bacteriófagos. Los transposones de ADN pueden estar incorporados a plásmidos y de esa manera transportar genes de resistencia antimicrobiana. Algunos transposones son capaces de moverse de una bacteria a otra sin incorporarse a un cromosoma, un plásmido o un bacteriófago.

DIAGNOSTICO DE INFECCIONES QUIRÚRGICA

El Diagnóstico de una infección de Herida Operatoria ser realiza en base a Criterios Diagnósticos, ya que en 1988 el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades de Atlanta (CDC, Georgia) elaboro una guía que posteriormente tubo algunas modificaciones en el año 1992 pero que en general incluye los mismos aspectos:

1.- Infección del Sitio Quirúrgico Incisional Superficial:

a) Drenaje purulento de la incisión superficial.
b) Microorganismo aislado de un cultivo obtenido de manera aséptica de líquidos o tejidos de la incisión superficial.
c) Por lo menos uno de los signos o síntomas siguientes: Dolor o hipersensibilidad, tumefacción localizada, enrojecimiento o calor y abertura deliberada de la incisión superficial por el cirujano a menos que el cultivo de la incisión sea negativo.
d) Diagnóstico de la infección del sitio quirúrgico incisional superficial por el cirujano o médico a cargo.

2.- Infección del Sitio Quirúrgico Incisional Profundo:

a) Drenaje purulento proveniente de una incisión profunda, pero no del componente de espacio y órgano del sitio quirúrgico.
b) Incisión profunda que experimenta dehiscencia espontánea o que abre de manera deliberada el cirujano cuando el paciente tiene por lo menos uno de los signos o síntomas siguientes: hipertermia mayor de 38 grados

centígrados, dolor o hipersensibilidad localizados, a menos que el resultado de la incisión sea negativo.
c) Absceso u otra prueba de infección que afecta a la incisión profunda durante el examen directo, durante la reoperación, o tras el examen histopatológico o radiográfico.
d) Diagnóstico de infección del sitio quirúrgico incisional profundo por un cirujano o por el médico a cargo.

3.- Infección del Sitio Quirúrgico en Espacio Orgánico:

a) Drenaje purulento por un dren colocado a través de una herida por transfixión en el espacio orgánico.
b) Microorganismos aislados en un cultivo obtenido de manera aséptica del líquido o tejido del espacio orgánico.
c) Absceso u otras pruebas de infección que afectan el espacio orgánico durante el examen directo, durante la reoperación o por medio del examen histopatológico o radiográfico.
d) Diagnóstico de infección del sitio quirúrgico de espacio orgánico por un cirujano o por el médico a cargo.

Las infecciones de heridas operatorias que ocurren en etapas tempranas (en el transcurso de 24 a 48 horas tras la cirugía), deben sugerir infección por estreptococo beta hemolítico del grupo A, especies de clostridium, o microorganismos que causan fasceitis necrotizante.

Hay algunos signos indirectos que nos ayudan a determinar clínicamente el posible germen causante de infección como son:

1.- Infecciones por Estafilococos Aureus: Período de incubación de 4 a 6 días, tiende a circunscribirse, la manifestación inicial es eritema, edema, dolor, y a continuación se forma un absceso. Por lo general, el pus es espeso, cremoso e inodoro, a veces de coloración amarillenta, la septicemia es común, no adenopatías, casi siempre se presenta fiebre y leucocitosis.

2.- Heridas Infectadas por S. Epidermidis: Anteriormente se consideraba que no era patógeno, pero cada vez es más frecuente encontrarlo en heridas infectadas, el cuadro es leve, sin gran invasión o necrosis; puede aparecer después de la salida del hospital.

3.- Infecciones por Bacilos Gram Negativos: Se acompañan por Estreptococos anaerobios y B. Fragilis, puesto que se producen por contaminación con el contenido intestinal; el período de incubación es de 7 a 14 días o más si se administran antibióticos. Se encuentra menor grado de celulitis, edema, eritema y dolor que en la estafilococcica; puede existir enmascarada, taquicardia, hiperglicemia y el estado es hiperdinámico, es más frecuente que la hipotensión y la vasoconstricción; puede descubrirse la bacteriemia antes que la inflamación local.

4.- Infecciones por Estreptococos del Grupo A: Curso fulminante, se encuentra celulitis difusa, linfangitis, linfadenitis con una gran vesícula llena de sangre alrededor del foco primario; hay poca tendencia a formar absceso pero si no se trata presenta esfácelo local, gangrena o necrosis. La septicemia es común y es característica la presencia de exudado acuoso purulento, son comunes estos hallazgos en los primeros días así como; escalofríos, taquicardia, fiebre, diaforesis y postración.

5.- Infecciones Anaerobias: Componente frecuente en las afecciones de heridas quirúrgicas y abscesos profundos. El pus se caracteriza por ser espeso, grisáceo y fétido.

6.- Gangrena Gaseosa y Celulitis por Clostridium: Rara en heridas asépticas, predomina en heridas traumáticas con destrucción tisular; la mortalidad es elevada.

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

CONDICIONES GENERALES PARA LA OBTENCION Y MANEJO DE MUESTRA[10]

1. Elegir el lugar correcto a partir del cual se obtendrá la muestra empleando la técnica apropiada. Es decir, debe obtenerse la muestra del sitio de infección identificado por medio de una técnica aséptica que asegure la no contaminación de la muestra con flora normal.

2. Obtener una suficiente cantidad de muestra para asegurar el aislamiento del germen relacionado con el proceso infeccioso en estudio y evitar los resultados falsos negativos.

3. Obtener la muestra antes del inicio de la terapia antimicrobiana. Si el paciente ya hubiera recibido alguna dosis del antimicrobiano al momento de obtener la muestra, el Laboratorio debe ser informado al respecto.

4. Enviar las muestras al laboratorio inmediatamente después de haber sido obtenidas para su procesamiento, con el objeto de incrementar la probabilidad de recuperación de los micro-organismos involucrados en el proceso infeccioso.

5. Las muestras se colocan en un recipiente secundario apropiado para su transporte al laboratorio para evitar cualquier derrame y por lo tanto los riesgos que de ello se derivan.

6. El paciente debe ser informado en forma clara y sencilla de acuerdo a su grado de instrucción sobre los procedimientos a realizar.

---

[10] Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias. 2001. Lima-Perú.

PROCEDIMIENTOS DE OBTENCION DE MUESTRA

La efectividad de un laboratorio microbiológico y el éxito de los procedimientos dependen en gran medida del modo de obtención, transporte, rapidez y oportunidad con que las muestras llegan al laboratorio. Estos procedimientos son prioritarios para que el laboratorio contribuya eficientemente en el diagnóstico, es por ello que todos los miembros del equipo de salud involucrados deben entender la naturaleza crítica de mantener la calidad de la muestra durante todo el proceso.

OBTENCION DE MUESTRA DE HERIDA OPERATORIA:

En el caso de una herida operatoria con sospecha de infección, la muestra se obtiene con hisopo.

Materiales:

a) Guantes de látex estéril

b) Solución salina estéril

c) Jabón

d) Gasa estéril

e) Hisopos estériles de algodón

f) Medio de transporte de Stuart o Amies con carbón

g) Lámina portaobjeto

h) Tubo estéril (opcional)

Procedimientos:

a) Colocarse los guantes de látex.

b) Realizar una buena asepsia de los bordes de la herida con agua y jabón. La limpieza debe realizarse de adentro hacia fuera en forma concéntrica.

c) Retirar el exudado de la superficie enjuagando y limpiando con solución salina estéril (también se puede usar agua estéril).

d) Separar suavemente los bordes de la herida con el pulgar e índice de una mano.

e) Con la otra mano, cuidando de no tocar los bordes cutáneos adyacentes introducir la punta del hisopo en la profundidad de la herida. Obtener la muestra rotando el hisopo y avanzando hacia fuera sin tocar el borde de la herida.

f) Obtener dos muestras:

• Una muestra para cultivo la cual se introduce en un medio de transporte (Stuart o Amies con carbón).

• La segunda muestra se obtiene para realizar una coloración Gram. Realizar el frotis inmediatamente después de haber obtenido la muestra cuidando que éste no sea muy grueso.

g) En el medio de transporte se puede mantener la muestra a temperatura ambiente hasta 24 horas.

Obtención de muestra de absceso por aspiración con aguja:

El método indicado para obtener muestras de abscesos es por aspiración con aguja.

Materiales:

a) Guantes de látex estériles

b) Jeringa estéril

c) Aguja adecuada (recomendable aguja Nº 18 a 20)

d) Solución salina estéril

e) Jabón

f) Gasa estéril

g) Tubo estéril (opcional)

h) Medio de transporte de Stuart o Amies con carbón

Procedimiento:

a) Colocarse los guantes de látex.

b) Realizar una buena limpieza de la superficie con agua y jabón. La limpieza debe realizarse de adentro hacia afuera en forma concéntrica.

d) Desinfectar la superficie con alcohol 70% o yodo - povidona.

d) Introducir la aguja a través de la piel y/o la pared del absceso y aspirar aproximadamente 1 mL del material purulento con la jeringa.

e) Colocar la muestra en un tubo estéril y enviar al laboratorio de acuerdo a los procedimientos indicados en la norma.

f) Si el transporte de la muestra al laboratorio demora más de 20 - 30 minutos se debe mantener en medios de transporte como Stuart o Amies con carbón.

g) En el medio de transporte, la muestra puede permanecer a temperatura ambiente hasta 24 horas.

ENVÍO Y TRANSPORTE DE MUESTRA

La muestra debe ser mantenida lo más cerca posible de su estado original, debiendo evitarse temperaturas extremas o desecamientos excesivos.

Por lo general, volúmenes de 1 - 5 mL de muestra deben enviarse al laboratorio dentro de 15 a 30 minutos.

PROCEDIMIENTO:

a) Para su transporte al laboratorio se colocan las muestras en un envase secundario, el cual puede ser de material plástico u otro resistente a roturas o filtraciones.

b) Todas las muestras son enviadas al laboratorio lo más pronto posible dentro de las dos horas de haber sido obtenidos. Si el proceso va a demorar, pueden mantenerse bajo las condiciones mencionadas por tipo de muestra en los medios de transporte que se recomiendan. Por lo general no se almacenan las muestras por más de 24 horas.

c) En caso sea necesario transferir las muestras a otros laboratorios, los responsables de su envío eligen el sistema de embalaje apropiado para la conservación de las muestras durante el tiempo que demanda el transporte hasta llegar al laboratorio.

CRITERIOS PARA RECHAZAR UNA MUESTRA

Debe controlarse cada hoja de pedido y etiqueta de la muestra para ver si se ha incluido toda la información esencial. Antes de rechazar una muestra debido a una información inapropiada o incompleta, debe establecerse contacto con la persona responsable para efectuar las correcciones necesarias para así poder completar la información.

Es necesario seguir estrictamente los procedimientos descritos, ya que la muestra obtenida puede ser rechazada por el personal de laboratorio de acuerdo a los siguientes criterios:

a) No indicar tipo de muestra o procedencia

b) No indicar tipo de examen en la orden

c) Inadecuada temperatura de transporte

d) Demora en el envío al laboratorio

e) Medio de transporte inadecuado

f) Muestra sin rotular o mal rotulada

g) Muestra que tenga evidencias de haberse derramado

h) Recipiente inadecuado (con rajaduras por ejemplo)

i) Muestra con contaminación obvia

j) Muestra seca en el hisopo

k) Una sola muestra de hisopado con varias ordenes

l) Volumen inadecuado

En casos de muestras rechazadas el personal de laboratorio debe explicar al médico solicitante las razones y observaciones en la ficha de solicitud de diagnóstico correspondiente. En el caso de muestras que no puedan ser obtenidas nuevamente, la interpretación de la coloración Gram debe ser revisada cuidadosamente.

PROCEDIMIENTOS PARA DIAGNOSTICO BACTERIOLÓGICO

Las bacterias para su desarrollo requieren de sustancias nutritivas cuyos componentes básicos deben satisfacer las mínimas exigencias nutricionales y condiciones de atmósfera (aerobiosis, anaerobiosis, micro aerofilia), pH y temperatura óptima para su crecimiento in vitro.

La elección de los medios de cultivo se realiza en función a la localización de las infecciones y las bacterias a investigar. Los errores

cometidos durante este paso del ciclo de procedimientos pueden invalidar la lectura e interpretación de los cultivos.

SIEMBRA PRIMARIA DE MUESTRA DE HERIDA OPERATORIA

Se aplica para el cultivo de muestra de herida para el diagnóstico bacteriológico en infecciones de herida abierta y abscesos.

Materiales y Equipos

a) Estufa de 35 – 37° C.

b) Cabina de Flujo laminar o mechero Bunsen.

c) Guantes de látex.

d) Contenedor de material contaminado.

Medios de cultivo:

− Agar sangre de carnero

− Agar Mc Conkey

− Pueden incluirse otros medios (ejm. Manitol salado, agar Columbia CNA con 5% de sangre de carnero, etc.)

Procedimiento

a) Realizar los cultivos en una cabina de bioseguridad o cerca del mechero Bunsen.

b) Utilizar placas con medios de cultivo cuando éstas hayan alcanzado la temperatura ambiente.

Inoculación de la muestra:

− Muestra de aspirado purulento: Con una pipeta pasteur inocular una gota de la muestra en un extremo de la superficie de la placa de agar sangre de carnero, agar Mc Conkey y/o otros medios.

− Hisopado de secreción: Frotar rotando el hisopo sobre la superficie de los medios de cultivo tratando que toda su superficie haga contacto con el agar, empezando con el agar sangre de carnero, Mc Conkey y/o otros medios.

d) Esterilizar el asa de siembra en el mechero de Bunsen hasta que se ponga rojo vivo.

e) Dejar enfriar el asa contando hasta 20.

f) Utilizando el asa de siembra y tomando como referencia central el inoculo de la muestra, realizar la siembra por dispersión agotamiento en cuatro cuadrantes de la placa, con el propósito de obtener colonias aisladas (Véase Figura 8).

g) Incubar las placas de AS a 35° C por 24 horas y el agar McC en condiciones aeróbicas y por 24 horas.

h) Esterilizar el asa de siembra en el mechero.

i) Concluida la siembra, cerrar la placa y colocarla con la parte que tiene el medio de cultivo hacia arriba.

j) Incubar las placas a 35 – 37° C por 24 - 48 horas en condiciones aeróbicas.

A las 24 horas observar el crecimiento de colonias. Si no se observa crecimiento seguir incubando hasta las 48 horas.

METODO DE COLORACION DE GRAM

FIJACION DE LA MUESTRA:

- Los frotis pueden ser fijados al calor o con metanol.

Al calor:

- Dejar secar el frotis en una superficie plana.

- Una vez seco pasarlo dos o tres veces por la llama del mechero. No sobrecalentar.
- Dejar enfriar la lámina antes de colorear.

Metanol: La fijación por metanol previene la lisis de los glóbulos rojos brindando una visualización más clara del campo.
- Dejar secar el frotis en una superficie plana.
- Colocar unas cuantas gotas de metanol y dejar un minuto. Eliminar el restante y secar la lamina al aire.
- No usar calor antes de colorear.

PREPARACION DE COLORANTES

1. COLORACIÓN GRAM DE HUCKER

1. 1. Cristal violeta

- Cristal violeta: solución stock:
- Cristal violeta (90 a 95% contenido del colorante) 40 g
- Etanol 95% 400 mL.

Disolver y mezclar
Almacenar en un frasco oscuro
Rotular con fecha de un año de expiración
Almacenar a temperatura ambiente

1. 1. 2. Solución de oxalato de amonio (1%)

- Oxalato de amonio (grado reactivo) 16 g
- Agua destilada 1600 mL

1. 1. 3. Cristal violeta : Solución de trabajo

- Solución stock de cristal violeta 40 mL
- Solución de oxalato de amonio (1%) 160 mL

Filtrar la solución stock de cristal violeta en una botella de vidrio. Una vez que ha filtrado completamente, filtrar a continuación la solución de oxalato de monio.
Rotular con la fecha de expiración mas próxima de cualquiera de la soluciones stock.

1. 2. Lugol de Gram:

- Cristal de yodo 1 gr
- Yoduro de potasio 2 gr
- Agua destilada 300 mL

Mezclar los cristales de yodo con el yoduro de potasio en un mortero.
Agregar el agua destilada en pequeñas cantidades.
Depositarlo en un frasco de vidrio oscuro.
Rotular con fecha de 6 meses de expiración.
Almacenar a temperatura ambiente

Precaución: El yodo y yoduro de potasio son corrosivos. Evitar la inhalación, ingestión o contacto con la piel.

1.2.1. Decolorante: alcohol – acetona (1:1)

- Etanol 95% 500 mL
- Acetona 500 mL

Mezclar el Etanol con la acetona
Depositarlo en un frasco de vidrio oscuro.
Rotular con fecha de un año de expiración.
Almacenar a temperatura ambiente

1.2.2. Colorante de contraste: Safranina:

- Safranina (certificada) 2.5 gr
- Etanol (95%) 100 mL

En un mortero disolver 0,25 g de la safranina (certificada) en 10 mL de etanol (95%), seguidamente agregarle 90 mL de agua destilada.
Almacenar la solución preparada en un frasco oscuro.

1.2.3. Decolorante: alcohol – acetona (1:1)

- Etanol 95% 500 mL
- Acetona 500 mL

Mezclar el Etanol con la acetona
Depositarlo en un frasco de vidrio oscuro.
Rotular con fecha de un año de expiración.
Almacenar a temperatura ambiente

Procedimiento:

- Preparar un extendido fino del material en estudio y dejarlo secar al aire.

- Fijar el material al portaobjeto de modo que no sea arrastrado durante el proceso de tinción, pasando rápidamente el portaobjeto 3 o 4 veces por la llama del mechero o con metanol y dejar secar.

- Colocar el preparado sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de cristal violeta.

- Colorear un minuto y lavar con agua de caño.

- Cubrir la lámina con lugol de Gram durante un minuto. Lavar nuevamente con agua.

- Sostener el portaobjeto entre el pulgar y el índice y bañar la superficie con unas gotas de alcohol acetona hasta no arrastrar más colorante violeta. Generalmente requiere de unos diez segundos o menos.

- Lavar con agua de caño y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte.

- Cubrir la superficie con safranina durante un minuto. Lavar con agua de caño.
- Dejar secar la lámina.

- Examinar la lámina coloreada al microscopio con objetivo 100 x de inmersión (aceite).

2. COLORACION GRAM - MODIFICACIÓN DE KOPELOFF

2.1.1. Cristal violeta alcalino:

Solución A

- Cristal Violeta 10 g
- Agua destilada 1000 mL
- Disolver el colorante en el agua destilada.
- Almacenar en un frasco color ámbar. Rotular con fecha de un año de expiración.
- Almacenar a temperatura ambiente.

Solución B: Bicarbonato de sodio

- Bicarbonato de sodio 50 g
- Agua destilada 1000 mL
- Disolver el bicarbonato en el agua. Rotular con fecha de un año de expiración.
- Almacenar a temperatura ambiente.

2.1.2. Solución de Lugol:

- Hidróxido de sodio 4 g

- Agua destilada 25 mL
- Cristales de yodo 20 g
- Yoduro de potasio 1 g
- Agua destilada 925 mL

Disolver el hidróxido de sodio en 25 ml de agua destilada en un frasco oscuro.
Agregar el yodo, yoduro de potasio y disolverlos bien.
Gradualmente agregar 975 ml de agua destilada, mezclando bien después de cada adición.

2.1.3. Decolorante

- Etanol 95% 700 mL
- Acetona 300 mL

Combinar y mezclar en un frasco color ámbar. Rotular con fecha de un año de expiración.
Almacenar a temperatura ambiente.
Precaución: El etanol y la acetona son inflamables.

2.1.4. Colorante de Contraste: Safranina

- Safranina O, certificada 20 gr
- Etanol 95% 100 mL
- Agua destilada 1000 mL

En un frasco de un litro agregar solo suficiente etanol para disolver la safranina (aproximadamente 50 mL). Agregar agua destilada a la solución de safranina,
Rotular con fecha de un año de expiración.
Almacenar a temperatura ambiente.

Procedimiento de la coloración:

- Cubrir el frotis con la solución A. Agregar aproximadamente 5 gotas de la solución B.

- Colorear 2 - 3 minutos cuidando que no se seque.
- Enjuagar completamente con la solución de lugol y descartar.
- Agregar mas solución de lugol para que cubra la lámina y dejarlo por 2 minutos.
- Manteniendo la lámina en posición inclinada agregar el decolorante y enjuagar inmediatamente.
- Colorear con safranina al menos 30 segundos.
- Enjuagar con abundante agua de caño.
- Dejar secar.

IDENTIFICACION BACTERIANA

Para un adecuado sistema de vigilancia de las infecciones intrahospitalarias es necesario realizar la identificación de casos y su etiología, la determinación de las características epidemiológicas, aplicar medidas de control y una continúa supervisión para determinar el éxito de esas medidas.

Se describe los protocolos básicos de trabajo recomendados para la identificación de las bacterias involucradas en el sistema de la vigilancia de infecciones intrahospitalarias. Si bien es cierto que el desarrollo de sistemas de multi pruebas, pruebas bioquímicas rápidas y pruebas enzimáticas nos brindan facilidades en la identificación de las bacterias, su uso no está al alcance de **todos** los laboratorios, debido a ello se describen protocolos de trabajo con pruebas bioquímicas convencionales para la identificación de bacterias.

IDENTIFICACION BACTERIANA DE COCOS GRAM POSITIVOS: Staphylococcus y Enterococcus

Para identificar si un aislamiento es estafilococo, estreptococo o enterococo. Esta diferenciación se realiza en base a la morfología de la colonia, tipo de

hemólisis, forma de las bacterias por coloración Gram a partir de un cultivo y de la prueba de reacción de la catalasa.

a) Las colonias de estafilococos son comúnmente grandes (2 mm a 3 mm a las 24 horas), convexas, lisas, enteras, opacas y con frecuencia pigmentadas, a diferencia de las colonias de estreptococos y enterococos que son más pequeñas (menos de 2 mm de diámetro), puntiformes, con aspecto translúcido a semi opaco.

b) Los estafilococos pueden ser fuertemente β hemolíticos en agar sangre de carnero, pero las zonas de hemólisis son menores en relación al tamaño de las colonias que las generadas por los enterococos y estreptococos hemolíticos.

c) Los estafilococos se agrupan generalmente en racimos, a diferencia de los estreptococos y enterococos que se reúnen en pares o cadenas.

1. Identificación de Staphylococcus:

Lectura de Cultivos en Agar sangre de carnero y Agar Columbia CNA-sangre:

a) Morfología de las colonias

Las colonias de la mayoría de Staphylococcus son lisas, enteras, algo elevadas. Miden aproximadamente de 1 a 3 mm de diámetro a las 24 horas. Si las placas se siguen incubando tres días a 34 – 37° C las colonias pueden medir de 3 - 8 mm dependiendo de las especies.

Las colonias de Staphylococcus aureus normalmente son grandes. Son de borde entero, de superficie lisa, la mayoría de ellas presentan un pigmento que va desde el amarillo crema hasta el naranja.

Las colonias de Staphylococcus epidermidis son algo más pequeñas dependiendo de las cepas, usualmente no se detecta pigmentos.

Las colonias de Staphylococcus saprophyticus son más grandes que S. epidermidis, son lustrosas y más convexas que otras colonias de estafilococos. Un 50% de las cepas son pigmentadas (Foto Nº 1).

Foto No. 1: Colonias de Staphylococcus aureus en agar

b) Coloración Gram:

Hacer una coloración Gram de las colonias sospechosas y observar al microscopio. Aplicar el procedimiento del Método de Coloración Gram. Si se observan cocos Gram positivos en racimos, realizar la prueba de la catalasa.

c)Prueba de la catalasa: Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Foto Nº 2).

- Reactivo: Peróxido de hidrógeno 3%

Foto No.2 Prueba de Catalasa.

Procedimiento

• Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 18 a 24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio.

• Agregar una gota de H2O2 al 3% usando un gotero o una pipeta pasteur.

• No es necesario mezclar el cultivo con el H2O2.

• Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas) lo que indica una prueba positiva, de lo contrario se considera la prueba negativa.

• Desechar el portaobjetos colocándolo en un desinfectante

• Realizar este procedimiento en forma paralela con cepas controles:

- Control positivo: S. aureus.

- **Control negativo**: Streptococcus spp

Si son catalasa positivas primeramente determinar si el organismo es o no Staphylococcus aureus, para ello se realiza la prueba de la coagulasa.

2. Prueba de la coagulasa

Se realiza para comprobar la facultad de la bacteria de coagular el plasma por acción de la enzima coagulasa, la cual aumenta la velocidad de coagulación del plasma. El resultado final es la formación de un coágulo de fibrina.

Materiales:

- Prueba en lámina (detecta factor de aglutinación o coagulasa ligada).

- Prueba en tubo (detecta coagulasa libre y ligada).

La prueba de coagulasa en tubo es definitiva, y la prueba de coagulasa en lámina puede ser usada como una técnica de tamizaje rápida para la

identificación de S. aureus. Todas las pruebas negativas en lámina deben repetirse utilizando la técnica en tubo.

Reactivo: Plasma de conejo deshidratado.

El plasma humano no debe ser usado a menos que haya sido cuidadosamente probado de no contener algún agente infeccioso, capacidad de coagulación e inhibidores.

Controles:

Positivo: S. aureus

Negativo: S. epidermidis o S. Saprophyticus

Prueba en Lámina

La prueba de la coagulasa en lámina es un método únicamente presuntivo. Por esa razón todos los resultados negativos o retardados (más de 20 segundos) deben ser confirmados por la prueba en tubo.

Procedimiento

• Preparar una suspensión densa de la colonia en agua destilada o solución fisiológica mezclando bien para homogenizar.

• Si hubiera auto aglutinación no continuar y realizar la prueba en tubo.

• Agregar una gota de plasma y mezclar con movimientos circulares.

• Observar la formación de aglutinación o precipitado dentro de 20 segundos.

• Todas las pruebas negativas y positivas retardadas (20 a 60 segundos) debe confirmarse con la prueba en tubo.

NOTA: Es una prueba bastante rápida y económica pero del 10 a 15 % de S. aureus pueden dar un resultado negativo, por eso, todos los resultados negativos deben repetirse utilizando la técnica en tubo.

Prueba en Tubo

Procedimiento

• Transferir una colonia aislada del agar sangre de carnero a 0,5 mL de plasma reconstituido (en un tubo de vidrio estéril de 13 x 100).

• Girar el tubo suavemente para lograr la suspensión del organismo. No agitar.

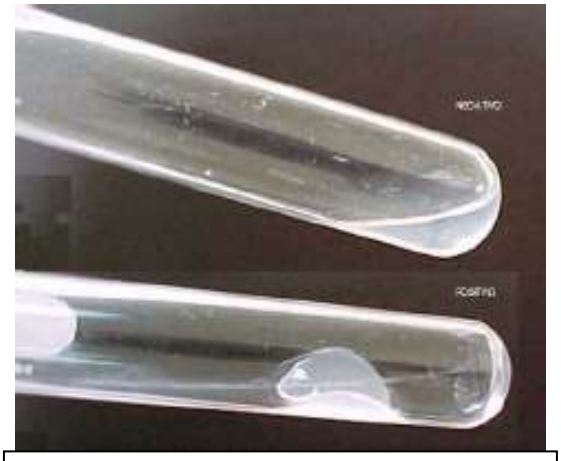


FOTO No.3 Prueba de Coagulasa en Tubo.

• Incubar la mezcla a 35 – 37° C (en baño maría de preferencia) por 4 horas; observar si hay formación de coagulo inclinando lentamente el tubo.

• Observar cuidadosamente si hay formación de coagulo inclinando lentamente el tubo (sin agitar) en intervalos hasta 4 horas. Cualquier grado de coagulación es una prueba positiva.

• La mayoría de los S. aureus formarán coagulo dentro de una hora.

• Si es negativa a las 4 horas seguir incubando hasta el día siguiente a temperatura ambiente. Esto es recomendado porque un pequeño número de cepas de S. aureus pueden requerir más de cuatro horas para la formación del coágulo. Considerar que Staphylococcus produce fibrinolisina, la cual puede lisar el coagulo.

• Realizar el control de calidad del reactivo utilizando controles positivos y negativos. Si es coagulasa positiva se identifica como Staphylococcus aureus.

• Si son estafilococos coagulasa negativos, realizar las pruebas de resistencia a la polimixina B y novobiocina (disco de 5ug) para tener una identificación presuntiva. S. saprophyticus es resistente a la novobiocina y S. epidermidis es resistente a la polimixi-na B.

NOTA: Es preferible utilizar baño maría para esta prueba (Foto Nº 3).

3. **Resistencia a la Novobiocina:**

Esta prueba se realiza principalmente para distinguir S. saprophyticus de otras especies de importancia clínica.

Medios y Reactivos:

• TSA con sangre de carnero o Agar Mueller Hinton

• Suero fisiológico o Caldo tripticasa soya

• Discos de novobiocina (5 µg por disco)

• Escala 0.5 de Mc Farland

• Incubadora a 35 – 37° C

• Vernier o regla

Procedimiento:

• A partir de colonias aisladas y cultivadas por 24 horas hacer una suspensión equivalente a la escala 0.5 de Mc Farland.

• Sumergir un hisopo estéril dentro de la suspensión ajustada y rotarlo varias veces presionando sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido. Esto removerá el exceso de inoculo del hisopo.

• Inocular sobre la superficie seca de una placa con agar sangre de carnero estriando homogéneamente con el hisopo sobre la superficie del agar. Repetir el procedimiento dos veces más rotando la placa 90°.

• Dejar de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

• Colocar el disco de novobiocina y presionar suavemente con una pinza estéril

• Incubar a 35 – 37° C toda la noche o 24 horas.

Lectura: Medir el halo de inhibición. Un halo ≤ 16 mm es resistente a la novobiocina, si es mayor es sensible.

La resistencia a novobiocina es intrínseca en S. saprophyticus.

4. **Resistencia a la Polimixina B**

Medios y Reactivos

• TSA con sangre de carnero.

• Suero fisiológico o Caldo tripticasa soya

• Discos de polimixina B (300 U por disco)

• Escala 0,5 de Mc Farland

• Vernier o regla

Procedimiento: Realizar el mismo procedimiento descrito para detectar la resistencia a novobiocina. Ambas pruebas pueden realizarse en la misma placa.

Lectura: La resistencia a la polimixina B se define por una zona de inhibición menor de 10 mm. S. aureus y S. epidermidis son usualmente resistentes.

2. Identificación de Enterococos:

Los Enterococos pueden presentarse como células únicas, en pares o en cadenas cortas. Se ven de forma cocobacilar cuando la coloración de Gram se realiza de una placa de agar y pueden verse en cadenas cuando se prepara la coloración de Gram a partir de caldo thioglicolato. Son anaerobios facultativos y su crecimiento óptimo es a 35° C. Muchas cepas crecen a 10 y 45° C.

Lectura de cultivos en Agar sangre de carnero y Agar Columbia CNA:

a) Apariencia de las colonias:

Usualmente son alfa hemolíticas o no hemolíticas en agar sangre de carnero 5% aunque también puede haber especies beta hemolíticas como algunas cepas de E. durans.

FOTO No.4 Colonias de Enterococcus faecalis en agar sangre.

b) Coloración Gram:

Si se observan cocos Gram positivos y se presentan solos, en pares o en cadenas cortas, algunas veces coco bacilares, realizar la prueba de la optoquina. Aplicar el procedimiento de coloración de Gram.

c) Prueba de la catalasa:

Seguir los procedimientos descritos en la identificación de Staphylococcus. Enterococcus es catalasa negativo.

Nota: Algunas veces se produce una seudo catalasa y se puede observar una débil efervecencia. Esto ocurre cuando E. faecalis desarrolla en medios que contienen sangre, (2) en este caso subcultivar la colonia en estudio en TSA o agar Mueller Hinton y repetir la prueba.

d) Prueba de la esculina en medio con bilis:

Se realiza para determinar la facultad de un organismo de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa, en presencia de bilis (Foto Nº 5).

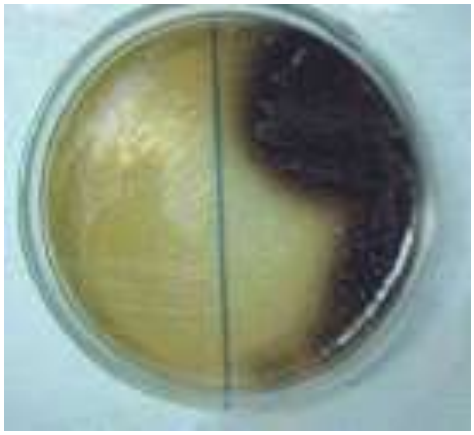


FOTO No. 5 Hidrólisis de la esculina en medio bilis esculina.

Procedimiento:

a) Inocular el cultivo en estudio haciendo estrías sobre la superficie del pico de flauta o de la placa de agar bilis esculina.

b) Incubar a 35 – 37° C hasta 72 horas.

c) Se puede controlar periódicamente, y esperar hasta las 72 horas antes de informar como negativo.

Lectura:

Positivo: - En tubo: Ennegrecimiento difuso en el agar inclinado

- En placa: Se observa un halo negro o marrón alrededor de las colonias en la placa.

Negativo: - No se produce ennegrecimiento del medio o ennegrecimiento de menos de la mitad del tubo después de 72 horas de incubación.

Controles:

− Control negativo: Staphylococcus aureus

− Control positivo: Enterococcus spp

e) Tolerancia al cloruro de sodio:

Para determinar la facultad de un organismo de desarrollar en presencia de una concentración de 6.5 % de cloruro de sodio.

Procedimiento:

a) Inocular en el caldo TSB con cloruro de sodio un cultivo de 18 - 24 horas de incubación.
b) Incubar a 35 – 37° C por 24 horas.
c) Se puede controlar periódicamente, y esperar hasta las 72 horas antes de informar como negativo.

Lectura:

Positivo: Hay desarrollo bacteriano

Negativo: No se observa crecimiento en el caldo

Controles:

− Control negativo: Escherichia coli

− Control positivo: Staphylococcus aureus

Se debe observar el oscurecimiento del agar indicando si hubo hidrólisis de laesculina yel crecimiento en el caldo con cloruro de sodio. Con estas pruebas tenemos dos identificaciones presuntivas posibles:

- Casi todos los enterococos (95%) son esculina positivos y crecen en medios con 6.5% de cloruro de sodio produciendo acidez.
- 5% – 10% de Streptococcus del grupo viridans son bilis esculina positivos.

NOTA: Una vez que se ha establecido que el microorganismo en estudio es presuntivamente un Enterococcus o un género cercano a él (Lactococcus o Vagococcus) Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus y Vagococcus han sido aislados de infecciones humanas.

a) Crecimiento en Telurito de Potasio: Es útil para la identificación presuntiva de E. faecalis (Foto Nº 6).

FOTO No. 6 Desarrollo de E. faecalis en agar telurito de potasio al 0.04%

Procedimiento:

a) Sembrar la cepa en estudio en TSA con 0.04% de telurito de potasio.

b) Incubar a 35 – 37° C. Si hay desarrollo de colonias negras se identifica presuntivamente como E. faecalis.

Sembrar en caldo para fermentación de carbohidratos con manitol, sorbosa, rafinosa, sorbitol y arabinosa, y en caldo base descarboxilasa con arginina.

a) Metabolismo de carbohidratos

Procedimiento:

a) A partir de un cultivo puro de 24 horas inocular los caldos conteniendo los diferentes carbohidratos con las colonias sospechosas cultivos puros.

b) Incubar a 35 – 37° C hasta por 4 días.

Lectura

Positivo: Viraje de color hacia el amarillo (indicador púrpura de bromocresol), indica producción de acidez.

Negativo: No hay viraje de color

b) Descarboxilación de la arginina:

Seguir los pasos descritos en el procedimiento: Producción de descarboxilasas en IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVOS FERMENTADORES: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Enterobacter (Foto Nº 7)

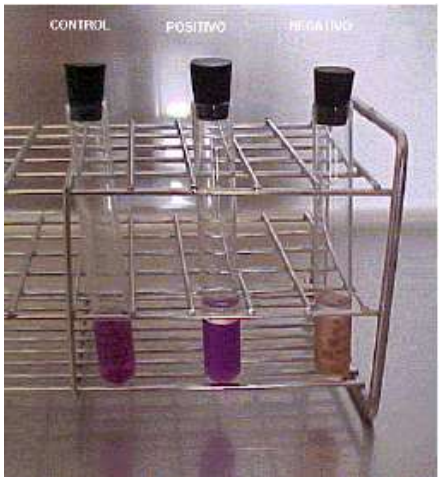


FOTO No. 7 Descarboxilación de la arginina en medio de Moeller.

IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVOS FERMENTADORES: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Enterobacter

Comprende el cultivo e identificación por pruebas bioquímicas de las colonias desarrolladas en agar Mc Conkey de las siguientes bacterias: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Enterobacter

Condiciones generales:

Las bacterias Gram negativas fermentadoras se desarrollan en agar sangre de carnero y agar Mc Conkey, pero en agar sangre de carnero no podemos hacer mayor diferenciación entre las colonias, sin embargo, en el agar Mc Conkey podemos diferenciar las colonias lactosa positivas y lactosa negativas.

Lectura de cultivos en Agar Mac Conkey:

- En agar Mc Conkey, Escherichia coli lactosa positiva son colonias de borde entero, de color fucsia, opacas, de 2 mm - 3 mm de diámetro, usualmente rodeadas de una zona opaca alrededor de la colonia (bilis precipitada). Las cepas de E. coli que son lactosa negativas dan colonias incoloras de 3 - 4 mm.

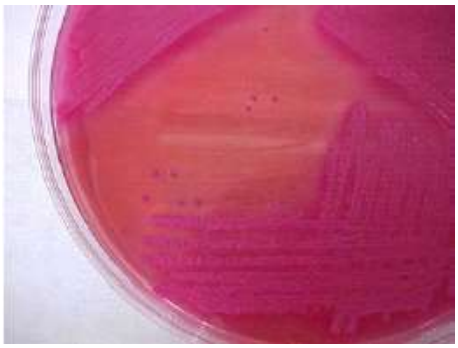


FOTO No. 8 Colonias de E. coli en agar Mc conkey.

- En agar Mc Conkey, K. pneumoniae son colonias de borde entero, de color rosado a rosado oscuro, de 3 - 4 mm de diámetro y mucoide.

FOTO No.9 Colonias de Klebsiella pneumoniae en agar Mc conkey.

- En agar Mc Conkey Enterobacterspp. son colonias de borde entero, de color rosado de 2 - 4 mm de diámetro, no tan mucoides como K. Pneumonia.

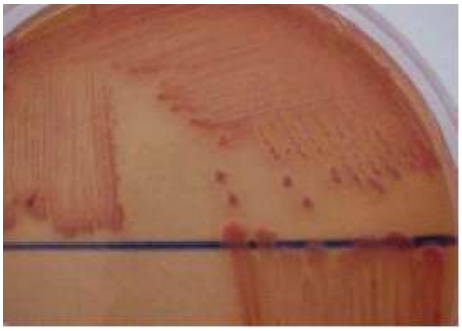


FOTO No.10 Colonias de Enterobacter cloacae en agar Mc conkey.

Las colonias con estas características son sub cultivadas en medios diferenciales.

Pruebas bioquímicas:

a) Utilización de lactosa
b) Utilización de glucosa
c) Producción de gas de glucosa
d) Descarboxilación de lisina
e) Producción de ácido sulfhidrico
f) Utilización del citrato

g) Producción de ureasa
h) Prueba MR
i) Prueba VP
j) Motilidad
k) Producción de indol
l) Prueba de ONPG

Procedimiento:

a) Identificar la colonia sospechosa que se encuentra en la placa de agar Mc Conkey.
b) Esterilizar al rojo vivo el asa de siembra recta en un mechero de Bunsen.

c) Enfriar el asa.

d) Obtener la colonia seleccionada con el asa recta, tratando de no tocar el fondo del medio de cultivo ni otra colonia vecina.

e) Sembrar por estría en los medios diferenciales empezando por el agar citrato, urea (en la superficie) , TSI, LIA (introduciendo el asa por el centro hasta tocar el fondo del tubo, retirar por el mismo trazo y sembrar en estría la parte inclinada), caldo para la prueba de indol, MRVP.

f) Sembrar por puntura en el centro del agar movilidad hasta una profundidad aproximada de 1.5 cm.

g) Incubar a 35 – 37° C de 18 a 24 horas.

Lecturas:

a) Agar TSI:

En estos medios se determina la capacidad de la bacteria de utilizar la lactosa, glucosa y sacarosa (en TSI), con producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico.

Lectura

Es importante hacer la lectura entre las 18 - 24 horas para no obtener resultados erróneos. La lectura se hace sobre la base de tres características: Utilización de hidratos de carbono, producción de gas y producción de ácido sulfhídrico.

• Utilización de hidratos de carbono:

− Utilización de lactosa: Reacción ácida en el pico de flauta (color amarillo) Abreviatura: (A).

− Utilización de glucosa: Reacción ácida en la columna del medio (color amarillo) Abreviatura: (A).

− No hay utilización del carbohidrato: Se puede observar una reacción alcalina (color rojo) o que no hay cambio de color (permanece del mismo color que el medio no inoculado) Abreviaturas: (K) o (N) respectivamente.

NOTA: Cuando el microorganismo también produce H2 S el precipitado negro puede ocultar la acidez.

• Producción de gas de glucosa:

− Se considera positivo: Presencia de una sola burbuja de gas, burbujas en el medio, división del medio, desplazamiento completo del medio del fondo del tubo dejando un área clara o una ligera muesca del medio en el costado del tubo.

− Se registra la lectura por medio de cruces (+).

• Producción de ácido sulfhídrico:

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

− Se registra la lectura por medio de cruces (+).

Resultados:

Ejemplo de simbolización e interpretación:

K/A - + : Significa alcalinidad en la inclinación y acidez en el fondo (fermentación de glucosa), gas negativo y H2S positivo.

N/N - - : Significa que no hay utilización de la lactosa y glucosa ni producción de H2S.

Controles:

	Columna Vertical (fondo)	**Superficie Inclinada(pico de flauta)**
E. coli (lactosa positivo)	amarillo/gas	amarillo
Shigella	amarillo/sin gas	rojo
Salmonella paratyphi B	amarillo/negro/con gas	rojo

Recomendaciones:

Si se observa que no hay cambio de color en el tubo hasta las 24 horas seguir incubando hasta las 48 horas. Si no se observa viraje de color y hay desarrollo, se trata de una bacteria no fermentadora (Foto Nº 11).

Foto No. 11: Reacción Bioquímica en el agar TSI.

b) Agar Lisina Hierro:

En este medio se determina simultáneamente la producción de lisina descarboxilasa y de la formación de ácido sulfhídrico

Lectura

Es importante hacer la lectura entre las 18 - 24 horas; si la lectura se realiza antes podemos obtener resultados falsos positivos, así como falsos negativos si se lee después de las 24 horas.
Realizar la lectura en la columna y en la superficie inclinada y observar la formación de ácido sulfhídrico el cual se evidencia por una coloración negra.

NOTA: Generalmente las cepas del grupo Proteus y Providencia, desaminan la lisina a ácido α-cetocarbónico. Este último forma compuestos pardo-rojizos en la región superficial del medio de cultivo con la sal de hierro y bajo la influencia del oxigeno.

Recomendaciones:
No incubar más del tiempo necesario para no ocasionar una alcalinización en la superficie del medio y por lo tanto producir un viraje hacia el violeta.

Controles

	Columna vertical (fondo)	**Superficie inclinada (pico de flauta)**
E. coli	amarillo	violeta
Proteus mirabilis	amarillo y negro	rojo-parduzco
Morganella morganii	amarillo	rojo-parduzco-violeta.

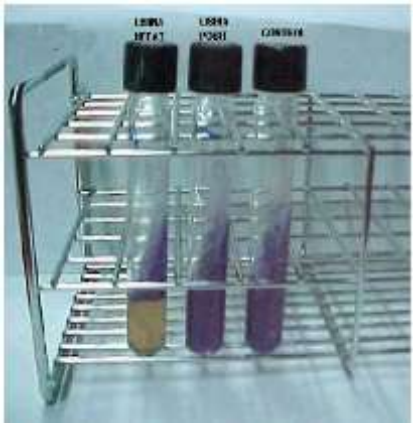


Foto No.12. Reacciones Bioquímicas en el agar LIA

c) Utilización de citrato:

Para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para su metabolismo.

Procedimiento

a) Incubar a 35 – 37° C 24 horas - 48 horas. En algunos casos es necesario una incubación hasta por 4 días.

b) Ver el viraje de color.

Resultados

a) Prueba positiva: Crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta, o presencia de colonias en ausencia del color azul.

b) Prueba negativa: No se observa crecimiento ni cambio de color (verde).

Controles

Positivo: Enterobacter cloacae

Negativo: Escherichia coli

Foto No.13 Reacciones Bioquímicas en el agar citrato.

d) Hidrólisis de la urea (producción de ureasa)

Es útil para determinar la capacidad de un organismo de degradar la urea, formando dos moléculas de amoniaco por acción de la enzima ureasa.

Procedimiento

Realizar la lectura después de 18 horas - 24 horas de incubación observando el viraje de color.

Resultados

Prueba positiva: Color rojo rosado intenso en el pico de flauta o todo el agar. Puede haber una reacción positiva retardada después de 24 horas y hasta 6 días de incubación (algunas cepas de Klebsiella por ejemplo).

Prueba negativa: No se produce cambio de color.

Controles:

Negativo. Escherichia coli

Positivo: Klebsiella pneumoniae

FOTO No. 14. Producción de Ureasa.

e) Rojo de metilo:

Permite comprobar la capacidad del microorganismo para producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa determinando cualitativamente el pH del medio.

Procedimiento:

El caldo debe ser incubado a 35 – 37° C durante 48 a 72 horas.

Asépticamente retirar 2,5 mL de caldo a un tubo estéril.

Añadir directamente al caldo 5 gotas del reactivo rojo de metilo (indicador de pH)

Interpretar el resultado del viraje de color inmediatamente

Si la lectura fuera negativa continuar la incubación para repetir la prueba

NOTA: No debe realizarse la lectura antes de las 48 h de incubación para evitar resultados erróneos. El desarrollo de un color rojo estable en la superficie del medio indica que la producción de ácido es suficiente como para bajar el pH a 4,4 y es una prueba positiva. Un color naranja (pH 5 a 5,8) indica una prueba negativa.

Resultados:

Prueba positiva: Color rojo

Prueba negativa: Color amarillo o naranja.

Controles:

Control positivo: Escherichia coli

Control negativo: Klebsiella pneumoniae

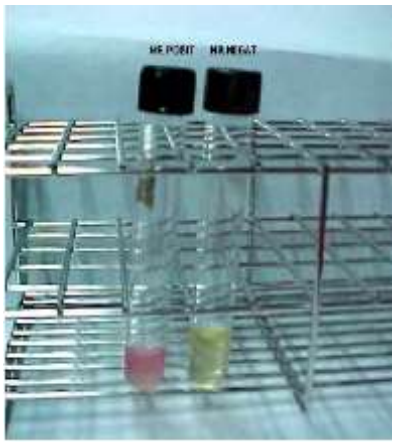


Foto No. 15: Prueba del Rojo de metileno.

f) Voges Proskauer:

Es útil para determinar la capacidad de algunos microorganismos de degradar la glucosa hasta acetil metil carbinol (acetoína) a través de un proceso de fermentación.

Medios y reactivos:

- Medio MR VP
- α naftol al 5 %
- KOH al 40%.

Procedimiento:

Incubar por 24 - 48 horas a 35 – 37° C.

Transferir 1 mL de caldo a un tubo de ensayo limpio. Añadir con una pipeta pasteur 0,6 mL de α naftol al 5 % y 0,2 mL de KOH al 40%.

Agitar el tubo cuidadosamente (para exponerlo al oxígeno atmosférico) y dejarlo reposar durante 10 á 15 minutos.

Resultados:

Prueba positiva: Desarrollo de un color rojo - rosado en la superficie del medio.

Prueba negativa: Mantiene su color

Controles:

Control positivo: Klebsiella pneumoniae

Control negativo: Escherichia coli

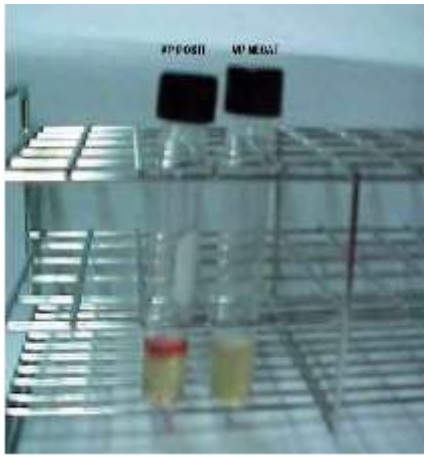


Foto No. 16: Prueba de

g) Motilidad (Medios SIM, o MIO o agar movilidad)

Para determinar si un organismo es móvil o inmóvil.

Procedimiento:

Incubar a 35 – 37° C durante 24 a 48 horas.

Resultados:

Positivo: Los microorganismos migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbidez. También puede manifestarse semejando "vellosidades" a lo largo del trazo de siembra.

Negativo: Se observa un crecimiento bacteriano acentuado siguiendo el trazo de siembra, y el medio circundante se mantiene claro.

Controles:

Control positivo: Escherichia coli

Control negativo: Klebsiella pneumoniae

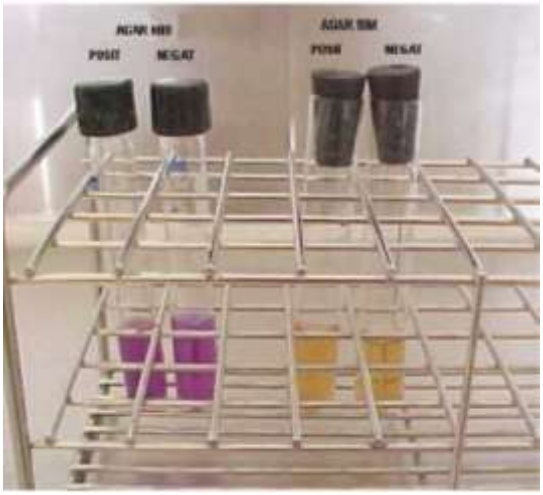


Foto No. 17: Prueba de

h) Prueba de Indol:

Es útil para determinar la capacidad de un microorganismo de producir indol a partir del amino-ácido triptófano.

Medios y Reactivos:

- Caldo de triptófano o de peptona o caldo de triptona.
- Reactivo de indol de Kovacs.

Procedimiento:

• Retirar asépticamente 2 mL de caldo de cultivo con 24 horas de incubación.
• Agregar 5 gotas de reactivo de Kovacs.
• Mover suavemente el tubo y realizar la lectura.
• Evaluar el cultivo a las 24 horas si la lectura es negativa, deberá incubarse otras 24 horas. El cultivo restante y repetirse la prueba.

Resultados:
Prueba positiva: Formación de un anillo rojo en la superficie del medio (la capa alcohólica)
Prueba negativa: No se produce color en la capa alcohólica, y toma el color del reactivo empleado
Controles:
Control positivo: Escherichia coli
Control negativo: Klebsiella pneumoniae

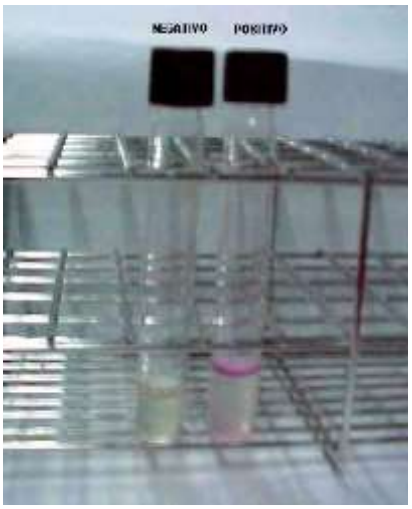


Foto No. 18: Prueba de indol.

i) Prueba de la ß galactosidasa (ONPG):

Es útil para demostrar la presencia o ausencia de la enzima β-galactosidasa utilizando el compuesto orgánico o - nitrofenil - β-D galactopiranósido (ONPG) y para diferenciar los organismos con reacción retardada a la lactosa de los organismos lactosa negativos.

Reactivo:

- Discos o tabletas de ONPG.

Resultados:

Prueba positiva: Formación de un color amarillo (formación de ortonitrofenol a partir del ONPG).

Prueba negativa: No hay cambio de color.

Controles:

Control positivo: Escherichia coli

Control negativo: Proteus spp

NOTA 1:

• Todas las Escherichia coli producen acidez de glucosa en el TSI o KIA (5% no producen gas) y un 98% son indol positivo, VP -, MR+ (99%), móviles (95%

• Todas las Klebsiella pneumoniae son Indol negativo, ornitina descarboxilasa negativa, no móviles. VP + (98%), citrato + (98%), urea +(95%), lisina descarboxilasa (98%), gas de glucosa (97%).

NOTA 2: Si se dispone de los medios y reactivos adicionalmente se pueden realizar pruebas de producción de descarboxilasas como:

• Descarboxilación de la ornitina (*)

• Descarboxilación de arginina

(*) Si no se dispone del medio MIO.

j) Producción de descarboxilasas:

Las pruebas de descarboxilación se realizan para medir la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar un aminoácido, el que da lugar a una amina, produciendo la alcalinización del medio.

Procedimiento:

• Inocular el cultivo en dos tubos con caldo descarboxilasa, uno de los cuales deberá contener el aminoácido a estudiar

• Cubrir con aceite mineral los tubos e incubar a 35 – 37° C durante 24 - 48 horas.

Lectura:

Positivo: Color azul púrpura en el tubo que contiene el aminoácido

Negativo: Color amarillo

• Anotar los resultados de las pruebas de utilización de carbohidratos y producción de descarboxilasas.

IDENTIFICACIÓN DE BACILO GRAM NEGATIVO NO FERMENTADOR:

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa es fácilmente reconocida en medios de aislamiento primario por sus características:

- Morfología de la colonia
- Producción de pigmentos difusibles si están presentes
- Olor característico.

IDENTIFICACIÓN:
Morfología de las colonias:

Las colonias generalmente son planas, algo extendidas, bordes aserrados y tienen un brillo metálico.

Foto No. 19: Colonias de Pseudomonas aeruginosa en agar Mac conkey.

NOTA: Algunas cepas de P. aeruginosa pueden no producir pigmentos, frecuentemente estas cepas son bastante mucoides y se aislan a partir de muestras de secreciones respiratorias de pacientes con fibrosis quística.

Determinación de las características bioquímicas:

Identificada la colonia sospechosa. Realizar las siguientes pruebas:

a) Utilización de lactosa

b) Utilización de glucosa

c) Prueba de oxidasa

d) Crecimiento a 42° C

e) Utilización de citrato

f) Reducción de nitrato

g) Hidrólisis de la gelatina

Procedimiento:

a) Identificar la colonia sospechosa que se encuentra en la placa de agar Mc Conkey.

b) Esterilizar al rojo vivo el asa de siembra recta en un mechero de Bunsen.

c) Enfriar el asa.

d) Obtener la colonia seleccionada con el asa recta, tratando de no tocar el fondo del medio de cultivo ni otra colonia vecina.

e) Sembrar por estría en los medios diferenciales empezando por el agar citrato (en la superficie), TSI, LIA (introduciendo el asa por el centro hasta tocar el fondo del tubo, retirar por el mismo trazo y sembrar en estría la parte inclinada), caldo para la prueba de indol y caldo nitrato.

f) Sembrar por puntura en el centro del agar gelatina (hasta una profundidad de 1,5 cm - 2,5 cm) y agar movilidad hasta una profundidad aproximada de 1.5 cm.

g) Quemar el asa y dejar enfriar.

h) Con el asa recta obtener la misma colonia trabajada y cogerla tratando de no tocar el fondo del medio de cultivo ni otra colonia vecina y sembrar haciendo pequeños trazos en el extremo de dos placas de TSA o Mueller Hinton (sembrar solo una placa de TSA o Mueller Hinton si no se dispone de incubadora a 42° C).

i) Utilizando un asa de siembra en aro estéril y tomando como referencia central el inoculo de la colonia, realizar la siembra por dispersión agotamiento en los cuadrantes de la placa.

j) Incubar a 35 – 37° C de 18 a 24 horas a excepción de una placa de TSA que debe ser incubada a 42° C.

Lecturas:

a) Agar TSI:

Se siguen los pasos descritos en el Procedimiento identificación de bacilos gram negativos fermentadores: Escherichia coli, Enterobacter y K. pneumoniae.

P. aeruginosa da una reacción: K/K o N/N y no hay producción de sulfuro de hidrógeno.

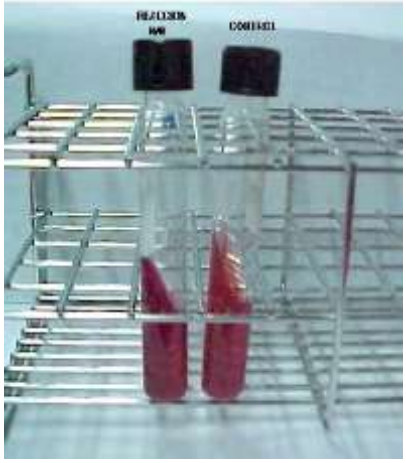


Foto No.20: Reacción de P. aeruginosa en el agar TSI.

b) Prueba de utilización de citrato:

Procedimiento:

Seguir los pasos descritos en el Procedimiento identificación de bacilos gram negativos fermentadores: Escherichia coli, Enterobacter spp y K. pneumoniae.

NOTA: 95% de cepas de P. aeruginosa son positivos.

c) Prueba de hidrólisis de la gelatina:

Determina la capacidad de un microorganismo de producir gelatinasas (enzimas de tipo proteolítico) que licúan la gelatina.

Medio:

- Gelatina nutritiva pH 6,8

Procedimiento:

- Utilizando una asa de siembra en punta y a partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas coger un inóculo abundante y hacer una punción en el centro y en forma vertical en el medio de gelatina hasta una profundidad de 1.5 a 2.5 cm.
- Utilizar un tubo con medio de gelatina sin inocular como control de la prueba.
- Incubar los cultivos en estudio y de control a 22 - 25° C por 24 - 48 horas y hacer la lectura. Evaluar diariamente el cultivo durante 14 días.
- Al término de cada período de 24 horas colocar el tubo control y el de estudio en el refrigerador o en un recipiente con hielo durante 2 horas aproximadamente para determinar si se ha producido o no la digestión de la gelatina (licuefacción).
- Realizar las lecturas observando si hay crecimiento (turbidez) y licuefacción.

Controles:

Positivo : Serratia marcescens

Negativo : E.coli

Resultados:

Positivo : medio de cultivo semilíquido.

Negativo: medio de cultivo sólido.

Recomendaciones:

En todos los ensayos debe prepararse un tubo control (sin inoculación del microorganismo).

Pasar los tubos de la incubadora al refrigerador sin agitarlos para evitar resultados falsos negativos.

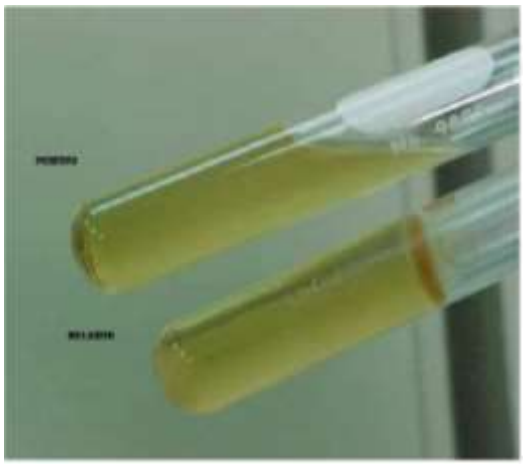


Foto No.21: Hidrólisis de la Gelatina.

d) Prueba de reducción de nitrato a nitritos:

Se realiza para determinar la capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato a nitritos o en nitrógeno libre.

Medios y reactivos:

- Caldo con nitrato: pH 7
- Reactivo A (Ver anexo C)
- Reactivo B (Ver anexo C)
- Polvo de zinc

Procedimiento:

Incubar a 35 – 37° C por 12 a 24 horas. Puede requerir una incubación hasta 5 días pero no es frecuente.

Agregar directamente al caldo de cultivo, 1 gota del reactivo A y 1 gota del reactivo B.

Resultados:

• **Primera prueba:**

Positivo: cambia a un color rojo dentro de 30 - 60 segundos (prueba completa).

Negativo: no cambia de color.

• **Segunda prueba**:

Agregar aproximadamente 20 mg de polvo de zinc, y observar el color en el término de 5 - 10 minutos.

Positivo: no hay desarrollo de color. El nitrato ha sido reducido a nitrógeno libre. (ausencia de nitrito en el medio).

Negativo: color rosado a rojo intenso, el nitrato no fue reducido por el organismo (el zinc redujo el nitrato en nitrito).

Controles:

Control positivo : Escherichia coli

Control negativo: Acinetobacter calcoaceticus

Foto No. 22: Prueba de reducción de Nitrato.

e) Prueba de la oxidasa:

La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como aceptor de electrones en

la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones. Con esta prueba se determina la presencia de la enzima oxidasa.

Reactivos:

- N,N,N,N, tetrametil-p fenilenediamina o
- N,N, dimetil-p fenilenediamina Solución acuosa al 1%

Procedimiento:

- Se trabaja a partir del crecimiento bacteriano en TSA o Mueller Hinton.
- Humedecer un trozo de papel de filtro con el reactivo dentro de una placa petri.
- Con la ayuda de un mondadiente o un asa de platino o aluminio (el nicrón u otro material de las asas que contienen fierro pueden causar reacciones falsas positivas) se coge la colonia a probar y se coloca extendiéndola sobre el papel filtro.

Controles:

Positivo : P. aeruginosa

Negativo: E. coli

Resultados:

Positivo: Viraje de color hacia el azul -violeta (con el reactivo N, N, N, N, tetrametil-p-fenilenediamina) o púrpura (con el reactivo N, N, dimetil-p fenilenediamina) después de 10 - 15 segundos.

Negativo: No hay viraje de color (Foto Nº 23)

Foto No. 23: Prueba de Oxidasa.

Alternativamente una solución de reactivo al 0.5% puede ser goteado directamente sobre la colonia.

NOTA: De no ser posible preparar los reactivos, se debe adquirir las tiras comerciales. El 99% de cepas de P. aeruginosa son oxidasas positivas.

f) Crecimiento a 42° C:

Luego del período de incubación observar si hay desarrollo del cultivo en estudio.

Resultados:

Todas las cepas de P. aeruginosa crecen a 42° C.

g) Producción de pigmentos:

Después del período de incubación, realizar la lectura verificando la producción de algún pigmento en el TSA o agar Mueller Hinton.

P. aeruginosa produce pigmentos: verdoso o azul verdoso brillante, rojo o marrón.

Ocasionalmente algunas cepas de P. aeruginosa solo producen pioverdina siendo difícil su diferenciación de otras P. seudomonas como P. flluorescens o P. putida, sin embargo se puede diferenciar de las otras especies por la temperatura de crecimiento (42° C) (7).

Lectura:

Si no se observara pigmento dejar la placa incubando a temperatura ambiente y realizar la lectura a las 48 horas (Foto Nº 24).

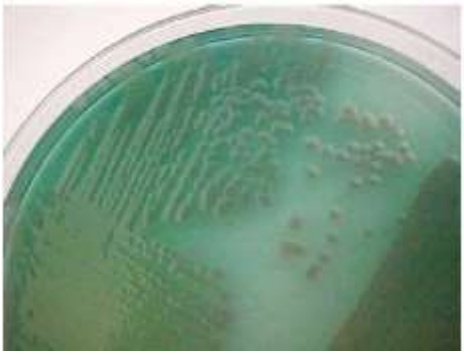


Foto No. 24: Producción de pigmento en P. aeruginosa.

NOTA: Si se dispone de estufa a 42° C o baño maría graduado a 42° C para la identificación de P. aeruginosa, es suficiente realizar las pruebas de: oxidasa, cultivo en TSI, crecimiento a 42° C y demos-tración d demos-tración de producción de pigmento verde-azulado, rojo o marrón en el agar TSA o Mueller Hinton.

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL METODO DE DISCO DIFUSION

Las diferentes especies y cepas de un microorganismo tienen grados variables de susceptibilidad a los antimicrobianos, además esta susceptibilidad puede cambiar especialmente durante el tratamiento. Es por eso que en un proceso infeccioso es importante que el clínico conozca además de la identidad del microorganismo, los antimicrobianos a los cuales es sensible para brindar un eficaz tratamiento. Esta información la debe dar el microbiólogo haciendo un diagnóstico preciso y determinando la susceptibilidad del microorganismo a varios antimicrobianos.

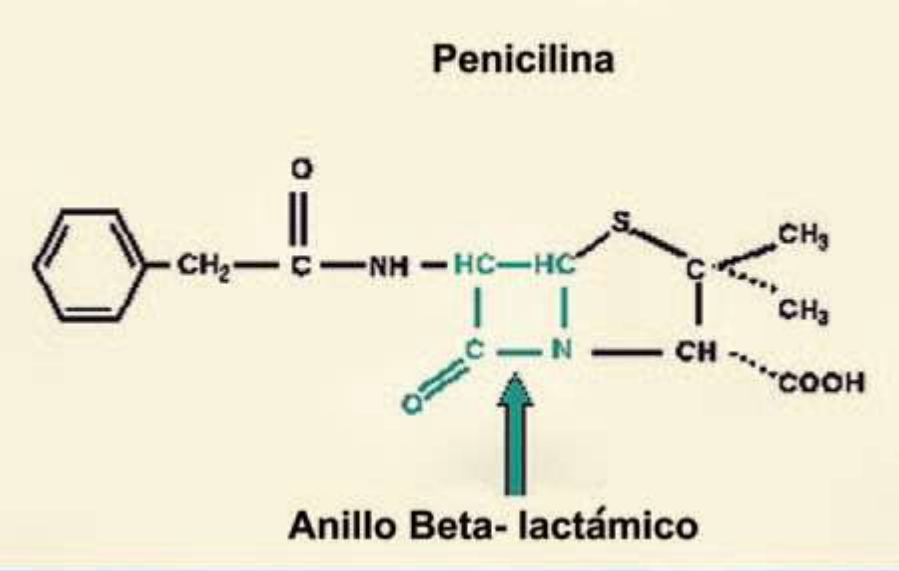
Para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos de las diferentes especies y cepas de un microorganismo se aplica el método de disco difusión que se describe más adelante.

BETA-LACTAMASAS:

Las beta-lactamasas son enzimas producidas por bacterias que inactivan los betalactámicosal hidrolizar el anillo beta-lactámico de los mismos. La mayoría de betalactamasasinactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antibióticos.

La mayoría de bacterias gram-positivas secretan sus beta-lactamasas de forma que los agentes antimicrobianos beta-lactámicos son inactivados extracelularmente, en el medio que las rodea.

En contraste, las beta-lactamasas de las bacterias gram-negativas permanecendentro de la célula e inactivan los beta-lactámicos en el espacio periplásmico, estoes, en el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica.



CLASIFICACIÓN DE LAS BETALACTAMASAS:

Se han propuesto varios modelos de clasificación para las beta-lactamasas de acuerdo con su espectro de hidrólisis, susceptibilidad a inhibidores, ubicación en genes(plásmido o cromosoma), y secuencia de genes o de proteínas.

Existen dos sistemas principales de clasificación:

La clasificación de Ambler se basa en la estructura molecular de la beta-lactamasa y su secuencia de aminoácidos. Esta clasificación reconoce cuatro tipos moleculares designados desde A hasta D. Los tipos A, C y D

incluyen grupos de enzimas relacionados por su evolución que poseen serina en su zona activa. Las beta-lactamasas de tipo B tienen una o dos moléculas de zinc en su zona activa y son inhibidas por EDTA.

La clasificación de Bush se basa en los substratos que la beta-lactamasa hidroliza y en la inhibición de su actividad por compuestos como el ácido clavulánico, EDTA, y aztreonam u oxacilina. Este modelo funcional de clasificación de lasbeta-lactamasas, propuesto por Bush, Jacoby y Medeiros en 1995, define los cuatro siguientes grupos de acuerdo a los substratos hidrolizados y perfiles de inhibición.

• Grupo 1—cefalosporinasas que no son adecuadamente inhibidas por el ácido
clavulánico.
• Grupo 2—penicilinasas, cefalosporinasas y carbapenemasas que generalmenteson inhibidas por inhibidores de beta-lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactamy tazobactam. Los subgrupos también se definen de acuerdo a las tasasde hidrólisis de carbenicilina o cloxacilina (oxacilina) producidas por las penicilinasasdel Grupo 2.
• Grupo 3—metalo-beta-lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas, y
carbapenems que son inhibidas por EDTA y no por inhibidores estructuralmente
relacionados a los beta-lactámicos.
• Grupo 4—penicilinasas que no son inhibidas adecuadamente por el ácido clavulánico.

Beta-lactamasas—Inducible:

La producción de beta-lactamasa inducible se inicia o induce cuando las bacterias que poseen un gene de beta-lactamasa se exponen a un agente beta-lactámico. La acción de los agentes antimicrobianos en la

pared celular activa un mecanismo genético en cascada que inicia la producción de beta-lactamasa. La producción debeta-lactamasa cesa ante la ausencia de los agentes antimicrobianos en la pared celular o alrededor de ella.

Beta-lactamasas—Constitutiva:

Beta-lactamasas constitutivas son aquellas que la bacteria produce en forma continua.
Un ejemplo de producción de beta-lactamasa constitutiva es la enzima cromosómicaSHV-1 de K. pneumoniae que interviene en la resistencia a la ampicilinay ticarcilina.

Beta-lactamasas –Grupo 2 de Bush:

Muchas beta-lactamasas se reunen en subgrupos del Grupo 2 de Bush.
Ejemplos de beta-lactamasas de amplio espectro incluyen las enzimas plasmídicas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 que intervienen en la resistencia a la ampicilina y 1ra generación de cefalosporinas en Enterobacteriaceae. Las siglas TEM se derivan de las iniciales del primer paciente en quien fue aislada una E. coli productora de beta-lactamasa en 1965. La SHV es considerada un pariente lejano de la TEM, las siglas se derivan de la clasificación inicial como una “variedad sulfidrilo”.

MÉTODOS DE PRUEBA—BETALACTAMASA:

Las pruebas para beta-lactamasa determinan si los agentes beta-lactámicos de espectro limitado (eje. penicilina y ampicilina) pueden ser utilizados para tratar unas pocas especies claves de bacterias.

Las especies para las cuales las pruebas de beta-lactamasa son útiles incluyen:

- Especie Enterococcus
- Haemophilus influenzae
- Moraxella catarrhalis
- Neisseria gonorrhoeae
- Especie Staphylococcus
- Algunas bacterias anaeróbicas

Para detectar in vitro una beta-lactamasa inducible, como la que se encuentra en la mayoría de cepas de Staphylococcus aureus, el S. aureus aislado se inocula en un medio de agar. Luego se coloca un disco de oxacilina en la placa de Petri y se incuba durante la noche. Al día siguiente, se toma una muestra del crecimiento ubicado en la periferia de la zona de inhibición alrededor del disco (esto es, donde se indujo la producción de beta-lactamasa) y se usa para la prueba de beta-lactamasa.

La prueba más común de beta-lactamasa usa un sustrato beta-lactámico
cromogénico (como una cefalosporina) que cambia de color cuando su anillo betalactámico es hidrolizado:

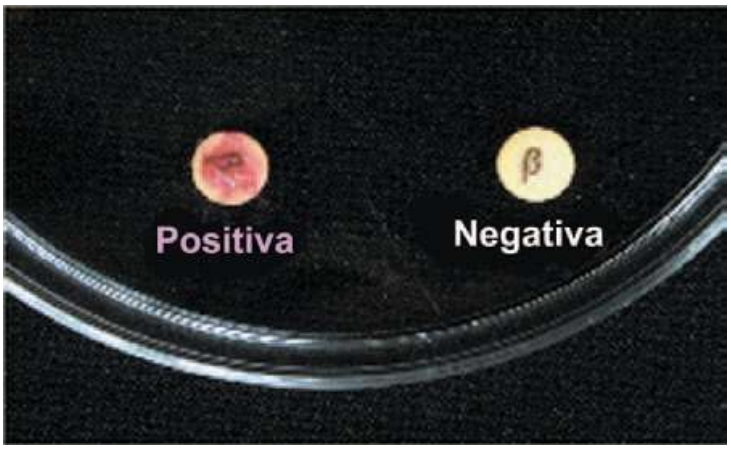
Procedimiento:

1. Inocular una gran cantidad de los organismos a examinar en el papel filtro impregnado de sustrato beta-lactámico cromogénico (usar un asa de inoculación).
2. Incubar por el tiempo y a la temperatura (por lo general temperatura ambiente)indicados por el fabricante. Especies diferentes podrían requerir diferentes tiempos de incubación. Muchas reacciones ocurren en forma instantánea.
3. Observe si hay un cambio de color.

Negativo = no hay cambio de color
Positivo = cambio de color, por lo general de incoloro o amarillo a rojo

Interpretación: Un resultado positivo indica resistencia a:

- Amoxicilina
- Ampicilina
- Carbenicilina
- Mezlocilina
- Penicilina
- Piperacilina
- Ticarcilina



PRUEBA DE BETALACTAMASA

Los anteriores beta-lactámicos son hidrolizados por los tipos de beta-lactamasas que se identifican con la prueba rutinaria de beta-lactamasa.Una reacción negativa no siempre significa que el organismo es susceptible a los agentes mencionados anteriormente. Algunas bacterias tienen mecanismos múltiples de resistencia a los agentes beta-lactámicos.

Criterios de Interpretación (R, I, y S)

Los escatogramas (también conocidos como scatterplots) se usan para establecerlos criterios de interpretación de CIM y difusión por disco, los cuales se conocen también como límites.

Los límites se establecen dando los siguientes pasos:

• La CIM y su correspondiente diámetro de zona son delineados para cada aislamiento.
• Los puntos de corte CIM son establecidos luego del análisis de:

• La distribución de las CIMs

• Las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del agente antimicrobiano(como se distribuye y funciona el agente antimicrobiano en el paciente)

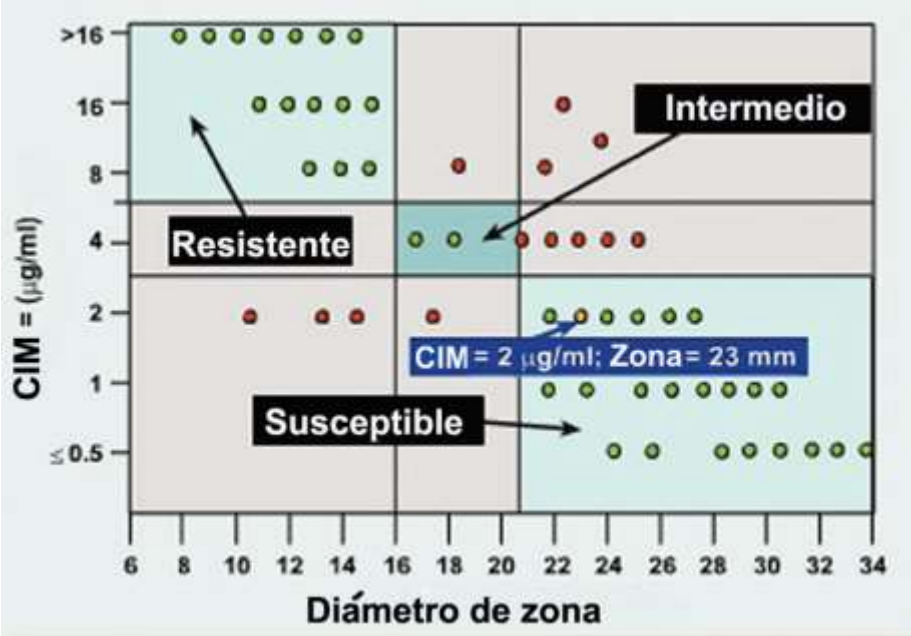
• Correlacionando datos clínicos de resultados individuales de CIM con la
respuesta de los pacientes.

• Luego se establecen los puntos de corte de la Difusión por Disco:

• Examinando el escatograma para determinar las mediciones de zona que mejor se correlacionan con los límites de CIM para resistente, intermedio y susceptible.

• Se cuenta el número de puntos fuera del campo (puntos rojos) para calcular
el porcentaje de aislamientos que presentan discrepancias entre la interpretación de difusión por disco y CIM. Para que los criterios de interpretación sean aceptables, el porcentaje de errores no puede exceder

los límites preestablecidos por la FDA y el NCCLS (Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico).



PRUEBA DE DIFUSIÓN POR DISCO

Una vez que se han aislado colonias de un organismo que ha sido Identificado comopatógeno potencial, es necesario proceder de la siguiente manera para realizar la prueba de susceptibilidad.

1. Seleccionar las colonias
2. Preparar una suspensión del inóculo
3. Estandarizar la suspensión del inóculo
4. Inocular la placa
5. Colocar discos de antimicrobiano
6. Incubar la placa
7. Medir las zonas de inhibición
8. Interpretar los resultados

SELECCIÓN DE COLONIAS:

Primero, seleccione varias colonias del organismo que esté analizando. Si selecciona entre 3–5 colonias, en vez de solo una, sus chances de detectar resistencia son mayores.

Nota: Utilizando una herramienta de inoculación (o un hisopo de algodón) recoga de la placa sólo colonias bien aisladas para evitar pruebas de cultivo mixto. Si no dispone de colonias bien aisladas, haga un sub cultivo del Organismo en una nueva placa.

Cómo Preparar y Estandarizar la Suspensión del Inóculo:

Existen dos métodos para la preparación de inóculo:

- Suspensión directa de colonias
- Fase logarítmica de crecimiento.

Sólo el método de suspensión directa de colonias proveerá resultados precisos para ciertos organismos. En ambos métodos, la turbidez de la suspensión debe ser estandarizada (para que sea igual) al estándar0,5 de Mc Farland (lo que corresponde a aproximadamente 1,5 X 10 8 CFU/ml). Las suspensiones así ajustadas deben utilizarse como inóculo dentro de los 15 minutos siguientes.

Nota: Los estándares de Mc Farland están hechos ya sea de sulfato de bario o
partículas de látex. Si usa sulfato de bario, agite antes de usar, si usa látex, invierta para mezclar.

Suspensión Directa de Colonias:

Para el método de suspensión directa de colonias, las colonias no deben sobrepasarlas 18–24 horas de aislamiento. Estandarice el inóculo al mismo tiempo que prepara la suspensión. Suspenda las colonias en solución salina o caldo (eje. Mueller-Hintono soya tríptica). Luego, ajuste el inóculo a una turbidez equivalente al estándar0,5 de McFarland. Puede comparar la turbidez de las suspensiones poniendo los tubos frente a un papel blanco o una tarjeta de archivo con líneas negras. Use suspensión directa de colonias para los siguientes organismos:

ESTANDARIZACIÓN DEL

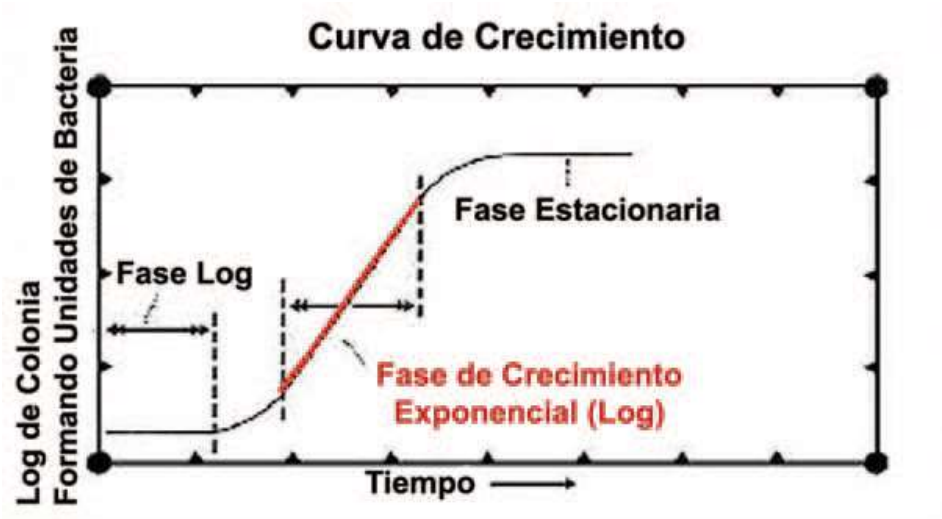
• Todos los estafilococos

• Bacterias fastidiosas que tienen crecimiento impredecible en caldo: eje., estreptococos

Método de Fase Logarítmica:

El método de fase logarítmica se usa con la mayoría de organismos que crecen rápidamente excepto estafilococos. Una vez que se han inoculado las colonias en un caldo, incube a 35 ºC para lograr un crecimiento

en fase logarítmica. El crecimiento defase logarítmica ocurre después de 2–8 horas de incubación. Después de la incubación, ajuste la turbidez para que sea igual al estándar 0,5 de McFarland.



Inoculación de la Placa:

Cómo Aplicar los Discos de Antimicrobianos

Coloque los discos con los agentes antimicrobianos dentro de los 15 minutos siguientes a la inoculación de la placa. Los discos pueden ser colocados uno auno o con un dispensador de discos multicanal, se pueden aplicar hasta 12 discos en una placa de 150 mm de diámetro hasta 5 discos en una placa de 100 mm. Presione cada disco firmemente para asegurar el contacto completo con la superficie de agar.

APLICANDO DISCOS CON UN DISPENSADOR

PRESIONANDO DISCOS PARA ASEGURAR CONTACTO

Cómo Medir las Zonas de Inhibición – Luz Reflejada:

Después de retirar la placa de la incubadora:

• Examine detenidamente la placa para verificar que el crecimiento sea uniforme y confluente de tal modo que pueda identificar zonas sin crecimiento bacteriano.

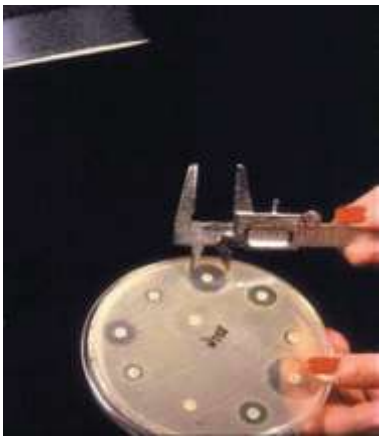
Para medir las zonas de inhibición desde la parte posterior de la placa usando luz reflejada:

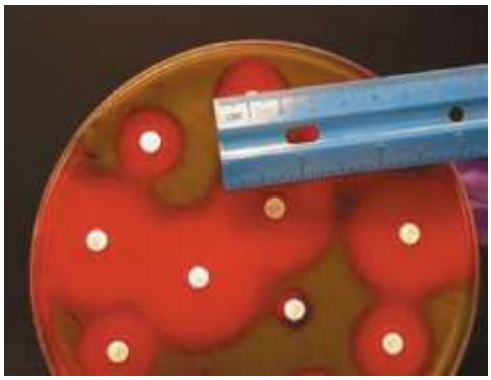
• Sostenga la placa unos pocos centímetros sobre una superficie de color negro que no refleje la luz.

• Mida redondeando al milímetro más cercano con una regla o un calibrador.

• La luz reflejada es usada para Enterobacteria, como E. coli, otros bacilos gram negativos, estafilococos y enterococos (excepto para oxacilina y vancomicina).

• La luz reflejada también es usada cuando se miden zonas de inhibición en agar Mueller-Hinton sangre. Cuando analice estreptococos en agar Mueller-Hinton con5% de sangre de cordero, retire la tapa y mida las zonas desde la parte superior de la placa.



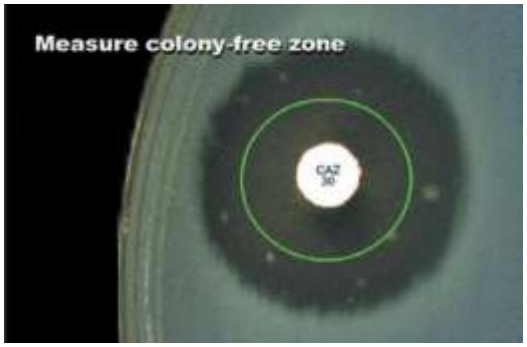


Cómo Medir Zonas de inhibición Inusuales:

Algunas zonas podrían ser difíciles de medir. En este caso se forma una doble zona: Mida la zona más interna.

Colonias dentro de la zona: Esto puede deberse ya sea a un cultivo mixto, que

por lo general es obvio, o a una sub población resistente de la bacteria analizada.



Zona con colonias internas y anillo verde que indica zona a ser leída

PRUEBA DE CIM

La concentración inhibitoria mínima (CIM) de un agente antimicrobiano es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba. Se determina la concentración en el laboratorio incubando una cantidad conocida de bacterias con diluciones definidas del agente antimicrobiano.

Utilizando los criterios de interpretación del NCCLS los resultados son interpretados como susceptible, intermedio o resistente.

Las pruebas de la CIM pueden ser realizadas usando como medios de cultivo en caldo o agar, pero la microdilución en caldo es el método más utilizado en los laboratorios clínicos.

Pruebas de Dilución en Agar de CIM

En el método de dilución en agar, el agente antimicrobiano es incorporado en el medio con cada placa que contenga una concentración diferente del agente antimicrobiano.

Los inóculos pueden ser aplicados rápida y simultáneamente a las superficies de agar utilizando un aparato de replicación del inóculo. La mayoría de replicadores disponibles transfieren de 32 a 36 inóculos a cada placa.

El agar Mueller-Hinton es preparado de una base deshidratada. El pH del agar debe estar entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente. No deben añadirse cationes suplementarios. Puede ser suplementado con 5% de sangre de cordero desfibrinada o sangre de caballo lisada en el caso de Streptococcus pneumoniae .

Las ventajas de las pruebas de dilución en agar incluyen la reproducibilidad de
los resultados y el crecimiento satisfactorio de la mayoría de organismos no fastidiosos. Sin embargo, sus desventajas incluyen el trabajo requerido para prepararlas placas de dilución en agar y su relativamente corto tiempo de almacenamiento.

Generalmente las pruebas de dilución en agar no se realizan en laboratorios clínicos de rutina pero pueden ser ideales para laboratorios

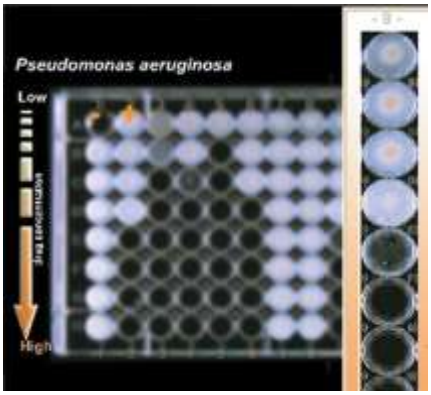
regionales de referencia o laboratorios de investigación que deben analizar un gran número de cepas.

Procedimiento para las Pruebas de CIM por Micro dilución en Caldo:

Los procesos de selección de colonias para evaluar, preparar y estandarizar la suspensión del inóculo para pruebas de CIM son los mismos que los descritos en el para difusión por disco.

Como Leer las Placas de CIM:

1. Retire la placa de CIM y la placa de control de pureza de las incubadoras.
2. Examine la placa de control de pureza utilizando luz reflejada y luego utilizando luz transmitida. A veces la contaminación suele ser casi imperceptible. Si la placa de control de pureza se muestra contaminada, la prueba de CIM no puede ser interpretada y debe ser repetida.
3. Revise el crecimiento en la celdilla de control positivo. Se debe encontrar turbidez o un punto de crecimiento > 2 mm lo cual indica crecimiento adecuado
en el panel de CIM.
4. Revise el pozo de control negativo. Esta debe estar claro, sin turbidez.
5. Lea el punto final CIM como la concentración más baja del agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento del organismo detectado por observación directa sin ayuda de ningún aparato óptico.



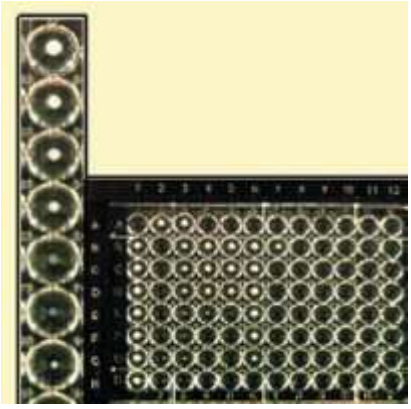
PLACA DE MICRODILUCIÓN DE CIM

Para trimetoprim, sulfonamidas y trimethoprim-sulfamethoxazol, lea el punto final a la concentración donde la reducción en el crecimiento es >80% comparada con el control positivo.

7. Algunos agentes, particularmente los agentes bacteriostáticos, pueden demostrar una muy ligera opacidad o pequeños puntos de crecimiento (<2 mm) en varias celdillas sucesivas. A esto se conoce como “arrastre.”

Generalmente, este crecimiento incipiente puede ser ignorado a menos que ocurra con lo siguiente:

• Oxacilina o vancomicina cuando se estén analizando estafilococos
• Vancomicina cuando se estén analizando enterococos



CIM CON ARRASTRE.

PROFILAXIS ANTIBIÓTICA

La administración de antibióticos antes de la cirugía para reducir la IHQ postoperatoria se usa con frecuencia, y resulta beneficiosa en muchas circunstancias. Sin embargo, esos antibióticos sólo protegen la incisión quirúrgica. Si no se administra correctamente, la profilaxis antibiótica no será efectiva y puede resultar peligrosa.

Algunos pacientes se benefician con la profilaxis antibiótica y otros no. El riesgo de IHQ aumenta con el grado de contaminación de la herida por ejemplo contaminada frente a la limpia, con independencia de otros factores de riesgo y con el número de factores de riesgo para un determinado tipo de operación.

La profilaxis antibiótica está claramente indicada para la mayoría de las operaciones limpias-contaminadas y contaminadas (o potencialmente contaminadas). La administración de antibióticos para operaciones sucias representa el tratamiento para una infección, no una forma de profilaxis. Algunos ejemplos de esta profilaxis son:

- Operación potencialmente contaminada → lisis de adherencia por la posibilidad de una enterotomía.
- Operación Limpia Contaminada: Colecistectomía electiva. En la que la profilaxis esta indicada, solamente cuando la cirugía biliar es de alto riesgo; se considera pacientes de riesgo elevado los mayores de 70 años, los diabéticos y los sometidos recientemente a instrumentación del tracto biliar (ej: endoprótesis biliar).[3]

La profilaxis antibiótica está controvertida para la cirugía limpia de partes blandas. Un ensayo prospectivo aleatorizado ha demostrado algún beneficio con la profilaxis, pero los resultados se ven confundidos por una frecuencia de infección mayor de la esperada en el grupo de control.

Los antisépticos y antibióticos preoperatorios también pueden contribuir a la prevención de IHQ. Una ducha preoperatoria con jabón antiséptico (povidona yodada) debe ser una parte estándar de la preparación de la cirugía.

La Profilaxis Antibiótica se recomienda en operaciones con riesgo de infección mayor o igual al 5 % o en aquellas en que el riesgo es menor pero su presencia podría acarrear elevada morbimortalidad, en tanto que sus beneficios en otros procedimientos son menos claros.

En los procedimientos "mínimamente invasivos": no hay datos disponibles en relación a estos(colecistectomía laparoscópica, resección

intestinal asistida por laparoscopia), pero se podrían aplicar los mismos estándares que para la cirugía tradicional.

Es así que la profilaxis antibiótica es controvertida e incluso no recomendado en muchas operaciones limpias. Sin embargo, se considera que en nuestro medio, actualmente, es apropiado aceptar su uso aun en estos casos, haciendo hincapié en lograr la implementación sistemática de la dosis pre quirúrgica y la limitación de su duración a los tiempos establecidos en cada una de las situaciones específicas.

SELECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS:

La selección de antibióticos se basa en 4 principios:

1. El fármaco debe ser seguro
2. El fármaco debe tener un espectro apropiadamente estrecho de cobertura de los patógenos relevantes.
3. El fármaco no debe ser uno de los usados para el tratamiento clínico de la infancia, debido a la posibilidad de desarrollo de resistencia si el antibiótico se usa demasiado.
4. Debe ser administrado durante un período de tiempo definido, breve (idealmente, una sola dosis; ciertamente la profilaxis no se debe prolongar más de 24 horas).

De acuerdo con esos principios para la profilaxis quirúrgica no se debe usar nunca una Cefalosporina de tercera generación ni una Quinolona.

La mayoría de las IHQ están causadas por cocos Grampositivos. Por tanto el antibiótico elegido debe ser activo primariamente contra los estafilococos para los casos limpios, y para la cirugía electiva de alto riesgo limpia contaminada de los tractos biliar y gastrointestinal superior. Una cefalosporina de primera generación suele ser el fármaco preferido para los pacientes con historia de anafilaxia a la penicilina. Más del 20% de las IHQ están causadas por estafilococo aureus meticilino resistente en estos casos está indicada la vancomicina.

CRITERIOS UTILIZADOS PARA SELECCIONAR LOS ANTIBIÓTICOS

De acuerdo con los criterios indicados anteriormente los antibióticos más frecuentemente utilizados son las cefalosporinas de primera generación.

El uso de antimicrobianos más nuevos y de mayor espectro debe restringirse exclusivamente a situaciones especiales. Teniendo en cuenta estos principios, se considera que dentro de las Cefalosporinas de primera generación, la Cefazolina es electiva sobre la Cefalotina por presentar ventajas farmacocinéticas de mucha jerarquía en esta situación particular (pico sérico más elevado y vida media más prolongada).

En cuanto a los criterios utilizados para usar antibiótico profilaxis se debe tener en cuenta ciertos factores de riesgo dependiendo del tipo de cirugía, en los cuales no suele ser útil el uso de una cefalosporina de primera generación sino un antibiótico de amplio espectro dependiendo del caso; por ejemplo:

En cirugía gástrica: Modificación natural o farmacológica de la secreción acida gástrica: (Cáncer, Sangrado, Obstrucción, Obesidad mórbida)

En cirugía biliar:>60 años, Síntomas recientes de inflamación aguda, Litiasis coledociana, Cirugía biliar previa.

Existen también ciertos factores clínicos aumentan el riesgo de infección postoperatoria y deben alentar la administración de agentes profilácticos. Estos factores incluyen:

- Puntaje de ASA 3, 4 o 5.

- Diagnóstico preoperatorio de 3 o más condiciones médicas mayores.

- Duración esperada de la cirugía mayor de 2 horas

- La presencia de un porcentaje no deseable de infección de heridas en la institución.

- Uso de prótesis o materiales extraños disponibles (por ejemplo, shunt, válvulas protésicas, etc.

ANTIBIÓTICO PROFILAXIS EN CIRUGÍA			
PROCEDIMIENTO		**PROFILAXIS**	**COMENTARIOS**
Cirugía Gástrica, Biliar y de Colon	**Gastroduodenal,** (Gastrostomía Endoscópica Percutánea) en pacientes de Alto Riego.	Cefazolina, Cefoxitina, Cefotetan, Ceftizocima o Cefuroximan 1,5g IV Dosis Única. (dosis adicionales c/12h por 2 a 3 días)	Alto Riesgo: Obesidad Mórbida, Obstrucción, ↓ Acido Gástrico,↓ de Motilidad.
	Biliar (incluida Colecistectomía Laparoscópica) solo en pacientes de Alto Riesgo	Cefazolina 1g o Ceftizocima 1g (repetir la dosis a las 12 y 24 horas) son equivalentes	Alto Riesgo: edad > 70 años, colecistitis aguda, ictericia obstructiva o cálculos en el colédoco. En colangitis tratar la infección no profilaxis
COLORRECTAL Antibióticos orales para cirugía Electiva	Régimen Oral: Neomicina + Eritromicina. 1 día: 10 a.m. 4L Polietileno Glicol durante 2 horas. 2 día: Dieta de líquidos claros solamente. 3 día: 13:00, 14:00 y 23:00 Neomicina 1g + 1gEritrobase 4 día: NPO después de medianoche.	**Parenteral para Cirugía de Emergencia:** Cefazolina 1-2g IV + Metronidazol 500mg IV o Cefoxitina o Cefotetan 1-2g IV o AMB-SB 3g IV o ERTA 1g IV.	* Régimen alternativo: Polietilenglicol1-6pm, neomicina2 g + metronidazol2 gVOa las 7 pmy 11pm.
THE SANFORD GUIDE TO ANTIMICROBIAL THERAPY 2010. Tabla 15B (2) pag: 176			

Para Ruptura de Víscera hueca la recomendación es:

SITIO ANATOMICO	REGIMEN PRIMARIO	REGIMEN ELECTIVO
PETITONITIS SECUNDARIA (perforación intestinal, ruptura del apéndice, ruptura de divertículos	Enfermedad Moderada a Leve: Peritonitis focal, AbscesoPeridiverticular, endometritis. **PIP-TZ** 3.375g IV c/6h o 4,5g IV c/8h o 4h. o **AMB-SB** 3g IV c/6h o **TC-Cl** 3.1gIV c/6h o **ERTA** 1g IVc/12ho **MO**XI 400mg C/12h	**CIP** 400mg IV c/12h o **Levo** 750mg IV c/24h +**Metro** 1g IV c/12h o **CFP 2g** c/12h+**Metro** o Tigecycline100mg IV una Dosis luego 50mg c/12h.
	Enfermedad grave Potencialmente mortal. Pacienteen UCI: **IMP** 500mg IV c/6h o**Metro**+ **CIP** 400mg IV o **MER** 1gm IV c/8h c/8h o **Levo**750mg IV c/24h o **DORI** 500mg c/8h**AMP**2gIV c/6h + **Metro**500mg IV c/6h + **AMG.**	

THE SANFORD GUIDE TO ANTIMICROBIAL THERAPY 2010. Tabla 1A pag: 44.

¿Cuándo Administrar los Antibióticos Parenterales para obtener el Efecto óptimo?

La eficacia de la profilaxis antibiótica depende en gran medida de que sea en el momento apropiado. Los errores que comúnmente empañan el mérito de esta técnica son: el incorrecto momento de administración inicial y la práctica habitual de continuar los antibióticos más allá de 72 horas.

Las recomendaciones actuales son administrar el antibiótico parenteral indicado para la profilaxis en una dosificación suficiente dentro de los treinta minutos o dentro la hora previa a la incisión. Los antibióticos administrados antes (excepto los de semivida más larga, como el metronidazol) no son efectivos, y lo mismo sucede si la medicación se

administra después de cerrar la incisión. Los antibióticos con semivida corta (< 2h; por ej: cefazolina o cefoxitina) se deben repetir cada 3 0 4 horas durante la intervención, si la cirugía es larga o con mucha pérdida de sangre. Si la dosis inicial de antibiótico se administra durante la operación, todavía proporciona algún beneficio, pero la administración posterior carece de utilidad profiláctica.

¿Cuánto tiempo Administrar los Antibióticos Profilácticos?

Estudios clínicos recientes, demostraron que una sola dosis antes de la operación tienen la misma eficacia que múltiples dosis administradas durante la evolución peri operatoria. Se ha recomendado una segunda dosis si se trata de operaciones que demandan más de dos o tres horas.[3]

La necesidad de hemostasia de la incisión quirúrgica crea un medio isquémico. Es posible que los antibióticos no penetren de forma adecuada en la incisión, inmediatamente después de la cirugía a causa de la hipoperfusión creada por la división y cauterización de vasos. La profilaxis preoperatoria con una sola dosis debe ser la norma.

EFECTOS SECUNDARIOS DE TERAPIA PROFILÁCTICA

Los efectos adversos en el paciente con terapia antibiótica profiláctica incluyen reacciones alérgicas, desde eritemas leves hasta reacciones severas de anafilaxia. Si bien colitis pseudomembranosa ha sido rara con los esquemas profilácticos, algunos casos se han dado con Eritromicina y Neomicina por vía oral, Aminoglicósidos por vía endovenosa, Metronidazol, Cefadrina, Cefaloridina, cefoxitina. Trastornos hemorrágicos se han documentado con el uso de ciertos Betalactámicos, lo cual debe tomarse en cuenta como un efecto secundario potencial en el uso de la profilaxis antibiótica.

La prolongación de la profilaxis antibiótica más allá de 24 horas no sólo no proporciona beneficios, sino que también se puede asociar con varias complicaciones. La enfermedad relacionada con Clostridium difficile es debida a la rotura del equilibrio normal de la flora intestinal, que conduce a la proliferación de C. difficile productor de enterotoxina. Está aumentando la incidencia de ERCD nosocomial. El espectro de la enfermedad es amplio, y abarca desde la infección asintomática hasta la colitis transmural, en potencia letal con infarto o perforación. Aunque prácticamente cualquier antibiótico puede causar ERCD, incluso después de la administración de una sola dosis, la profilaxis antibiótica prolongada aumenta claramente el riesgo.

La profilaxis prolongada también aumenta el riesgo de infecciones nosocomiales tardía, no relacionadas con la herida quirúrgica y la emergencia de patógenos resistentes a múltiples fármacos. Tanto la neumonía como las infecciones relacionadas con catéteres han sido asociadas con profilaxis antibiótica prolongada.

TRATAMIENTO DE LAS HERIDAS INFECTADAS:

Sólo una constante ha guiado el tratamiento de la IHQ establecida: incisión y drenaje de la herida. Muchas veces son suficientes la apertura de la incisión y la aplicación de cuidados básicos. (ej: apósitos de gasa de algodón empapados en solución salina), siempre que la incisión se abra lo bastante para facilitar las curaciones y el diagnóstico de las alteraciones asociadas.

Con respecto al cierre de la herida, la enseñanza tradicional ha aconsejado dejar abiertas las incisiones de alto riesgo después de la cirugía, para proceder al cierre primario tardío con suturas o adhesivos, aproximadamente 4 días después de la intervención, si para entonces la incisión tiene buen aspecto.

Si se considera que la incisión no esta preparada o si fracasa el cierre primario tardío se deja que la herida cicatrice por segunda intención, en un proceso que tarda semanas y consume recursos.

Existen datos dispares con respecto al cierre primario de las incisiones contaminadas. Parece que las incisiones de apendicectomías con división de músculos se pueden cerrar de forma primaria. “Los cirujanos pediátricos han estado haciéndolo rutinariamente y el análisis de decisión indica que el cierre primario proporciona buena relación coste-efectividad si la tasa de IHQ es inferior al 27%”.[3] Sin embargo las técnicas en el cuidado de la herida que pueden ser apropiadas para las incisiones de apendicectomías quizás no lo sean para las incisiones abdominales más grandes. “Un estudio prospectivo con gran número de pacientes demostró que el cierre primario de incisiones abdominales contaminadas en la línea media condujo a más fracasos de la cicatrización y mayor coste que el cierre primario tardío”[3]

Es probable que los drenajes colocados en las incisiones causen más infecciones de las que evitan. Se impide el sellado de la herida por epitelización, y el drenaje se convierte en un conducto que mantiene abierta una puerta para la invasión de la herida por los patógenos colonizadores de la piel. Bajo ninguna circunstancia se debe prolongar la profilaxis antibiótica para cubrir los drenajes permanentes.

Una incisión demasiado pequeña puede conducir a fracaso del control de la infección. La mayoría de los preparados distintos de la solución salina fisiológica aplicados a los apósitos (ej: solución de Dakin modificada, solución de ácido acético al 0,25%), suprimen realmente la proliferación de fibroblastos y pueden retrasar la cicatrización secundaria.

La apertura adecuada de la incisión es esencial no sólo para obtener el control de la infección sino también para diagnosticar y tratar cualquier

proceso asociado, como necrosis de la piel, del tejido subcutáneo o de la fascia, que requiera desbridamiento; dehiscencia de la fascia o evisceración con necesidad de reconstrucción de la pared abdominal; o drenaje desde debajo de la fascia, que podría indicar una infección de órganos o espacio o una fístula entérica. Sin control de las complicaciones, una IHQ puede ser difícil o imposible de erradicar.

En resumen el tratamiento quirúrgico de las heridas infectadas, consiste en el debridamiento de los tejidos necróticos lesionados, drenajes de abscesos, extracción de cuerpos extraños. En algunos casos se favorece el drenaje venoso y linfático con elevación de la región infectada; el calor puede ser útil para aumentar el flujo sanguíneo.

El tratamiento antibiótico no es necesario para la IHQ no complicada, abierta y drenada adecuadamente y que recibe cuidado local apropiado. De modo similar, si no están justificados, el cultivo y las pruebas de susceptibilidad del drenaje carecen de valor y pueden omitirse. Aunque se tomen muestras para cultivo, no se recomienda las torundas de drenaje, puesto que el riesgo de contaminación por la flora cutánea comensal es alto, lo que reduce su utilidad. Como alternativa se recomienda la recogida de muestras de tejidos o de pus, con técnicas asépticas y en condiciones anaerobias, para estudio microbiológico.

Los antibióticos pueden estar indicados si existen indicios de toxicidad sistémica (ej: fiebre; leucositosis) o celulitis que se extiende más de 2cm por fuera de la incisión. Los antibióticos también están indicados como tratamiento complementario de las complicaciones antes mencionadas. La elección de antibióticos se define por la operación realizada a través de la incisión y los gérmenes infecciosos probables, como ya se ha dicho. En la mayoría de los casos está indicada la cobertura contra cocos gram positivos.

El cierre de la herida por segunda intención puede tardar mucho y causar deformidades. Se puede ayudar al cierre de la herida ayudado por vacío. Los presuntos beneficios de los apósitos incluyen inflamación reducida, aumento de la actividad de los fibroblastos, mejoría de la higiene por aspiración continua del líquido, y contracción y cierre más rápidos de la herida.

Cámara hiperbárica se utiliza desde l963 para el tratamiento de las infecciones agudas por organismos productores de gas, se coloca al paciente y al equipo médico en una cámara de 3 atmósferas, 2280 mm Hg, el paciente inhala oxigeno al 100 % de una mascaría facial en 7 períodos de 90 minutos durante 3 días.

PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN EN EL SITIO QUIRÚRGICO

PREPARACIÓN PREOPERATORIA:

El paciente debe ser evaluado respecto a factores que puedan ser corregidos durante el período preoperatorio, antes de la cirugía electiva. Si es posible, se debe dar tiempo a que las lesiones cutáneas abiertas cicatricen, y el paciente no debe sufrir ningún tipo de infección bacteriana. Dejar de fumar, un mes antes de la cirugía. Se duchará con un jabón antimicrobiano la noche antes de la operación. No se debe afeitar la noche previa, puesto que el riesgo de IHQ aumenta claramente por las bacterias que colonizan los inevitables cortes pequeños y abrasiones. Se prestará particular atención al estado nutricional. Los pacientes obesos deben perder peso. Los pacientes desnutridos pueden beneficiarse incluso con un ciclo breve de nutrición enteral suplementaria (5 días).

MEDIO AMBIENTE DE QUIROFANO

Aunque factores como la técnica de esterilización y la ventilación correctas no deben formar parte de la responsabilidad diaria del cirujano, el

personal de quirófano debe permanecer siempre vigilante. El cirujano debe dedicar atención a la higiene personal y la del equipo completo. Datos recientes indican que un enjuagado breve con jabón y agua, seguida por frotado de las manos con gel de alcohol, es equivalente a la sesión prolongada (y ritualizada) en el lavabo quirúrgico.

La preparación cuidadosa de la piel con un antiséptico apropiado es esencial. No se ha demostrado que ningún método (comparación entre alcohol y povidona yodada) sea superior a otros, ni tampoco de la eficacia de las nuevas presentaciones en forma de gel de secado rápido.

Alrededor del 20% de los guantes quirúrgicos se rompen durante una operación, lo que hace posible la contaminación del campo quirúrgico, así como el contacto entre el cirujano y los líquidos corporales del paciente. Por tanto, se debe prestar atención a la inspección periódica de los guantes durante la operación. De modo similar, la mayoría de las batas quirúrgicas utilizadas ofrecen protección limitada (1,5 – 2 h en el mejor de los casos) contra la penetración de líquidos. Puede ser prudente cambiar las batas y los guantes con regularidad (cada 2h, aproximadamente), durante las operaciones largar y ciertamente se debe hacer si existe cualquier evidencia de pérdida de integridad de los materiales de barrera.

Aunque la mayor parte de la flora responsable de IHQ procede de la piel y es inoculada durante el procedimiento, las bacterias trasportadas por el aire, en especial estafilococos, supone algún riesgo. Se recomienda que las mascarillas quirúrgicas cubran la nariz y la boca en todo momento.

Debido a las pérdidas de agua por evaporación, la administración de líquidos a temperatura ambiente y otros factores, los pacientes pueden desarrollar hipotermia durante la cirugía, si no son calentados. El mantenimiento de la temperatura corporal central normal es esencial para disminuir la incidencia de IHQ

PERIODO POSTOPERATORIO

HIPERGLUCEMIA, NUTRICIÓN Y CONTROL DE LA GLUCOSA EN SANGRE:

La Hiperglucemia tiene varios efectos deletéreos sobre la función inmunitaria del huésped, sobre todo por alterar la función de los neutrófilos y los fagocitos mononucleares. La hiperglucemia también es un marcador del catabolismo y de la resistencia a la insulina, relacionados con la respuesta al estrés quirúrgico, e indica que la administración de insulina exógena puede mejorar el estado catabólico. El control deficiente de la glucemia durante la cirugía y en el período perioperatorio aumenta el riesgo de infección y empeora la evolución de la sepsis. El control estricto de la glucemia por el anestesiólogo durante la cirugía disminuye el riesgo. La hiperglucemia moderada > 200mg/dL en cualquier momento durante el primer día después de la operación aumenta cuatro veces el riesgo de IHQ. En un gran ensayo aleatorio de pacientes operados en situación crítica, la administración de insulina exógena para mantener las concentraciones de glucosa en sangre por debajo de 110mg/dl se asoció con una disminución de la mortalidad del 40%, menor número de infecciones nosocomiales y menor disfunción de órganos.

El meta análisis de los aproximadamente 35 ensayos existentes indica que el riesgo de infección posoperatoria disminuye de modo significativo con el control de la glucosa, independientemente de que el paciente tenga o no diabetes mellitus.[3]

La cirugía gastrointestinal puede convertir el tubo digestivo en no utilizable para la alimentación a veces durante largos períodos. El íleo es habitual en la UCI quirúrgica, debido a lesión cerebral traumática, analgesia por narcóticos, reposo encama prolongado, inflamación cerca del peritoneo. La nutrición parenteral se usa con frecuencia para alimentación. Aunque la

hiperglucemia puede ser una complicación. La alimentación enteral precoz (dentro de las primeras 36 horas) reduce el riesgo de infección nosocomial hasta menos de la mitad en los pacientes con lesiones y enfermedades críticas.

OXIGENACIÓN: Parece lógico que la administración de oxígeno durante el período postoperatorio deba ser beneficiosa para la cicatrización de la herida y la prevención de la infección. El medio isquémico de la incisión quirúrgica reciente es vulnerable; la vasodilatación de los lechos tisulares locales, para mejorar el aporte de sangre nutriente a una incisión, puede contribuir a mantener la temperatura corporal normal, y a prevenir la infección de la herida quirúrgica. Además, se ha postulado que el oxígeno tiene un efecto antibacteriano directo. Aunque los estudios realizados han sido conflictivos.

NUEVOS DISPOSITIVOS ACTIVOS PARA LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN DE LA HERIDA QUIRÚRGICA

Las técnicas innovadoras pueden combinarse con la práctica quirúrgica establecida, en un intento de disminuir todavía más el riesgo de IHQ. En reconocimiento de que las dos terceras partes de las IHQ son superficiales y proceden de la inoculación bacteriana durante la cirugía, y de que las intervenciones para disminuir las IHQ después de la cirugía tienen poco impacto, los fabricantes de material quirúrgico se han creado nuevos dispositivos de doble acción o “plataformas activas”. Tales dispositivos pueden reducir en un futuro próximo la incidencia de IHQ.

Un material de sutura antibacteriano, conocido como VICRYL Plus Antibacterial (Ethicon), puede inhibir S. aureus, S. epidermidis y cepas de Staphylococcus resistentes a la meticilina).

El hilo de poliglactina está recubierto de triclosano (2,2,4 tricloro-2-hidroxil-difenil éter), un antiséptico activo contra bacterias grampositivas

comunes causantes de IHQ. El triclosano parece suprimir la adherencia de las bacterias gram positivas comunes causantes de IHQ y difundirse en los tejidos adyacentes para proporcionar un efecto antibacteriano de larga duración. Las concentraciones más altas pueden inhibir también las bacterias gram negativas.

METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO:

- Intervencionista, transversal, prospectivo.

SUJETOS A ESTUDIO:

- Se realizo el estudio en 50 pacientes que presentaron signos y síntomas de infección del sitio operatorio confirmado por cultivos de las heridas los mismos que fueron realizados por los médicos residentes del servicio de cirugía del Hospital Pablo Arturo Suarez durante el período de marzo 2011 a marzo 2012.

CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes intervenidos quirúrgicamente por apendicitis aguda que en el pos operatorio presentaron signos y síntomas de infección de la herida quirúrgica (eritema, edema, calor, dolor, secreción pururlenta de la herida, fiebre > 38°C)
- Se incluyo solo las muestras obtenidas adecuadamente mediante las normas de asepsia y medidas de bioseguridad en el manejo de reactivos y cultivos.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Se excluye a los pacientes en quienes no se tomo las medidas de asepsia indicadas para toma de muestras.

- Aquellas muestras enviadas que no indican tipo de muestra o procedencia, tipo de examen en la orden o dañadas por inadecuada temperatura de transporte, demora en el envío al laboratorio.

EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN:

1. Se realizo el seguimiento de los pacientes intervenidos quirúrgicamente por apendicitis aguda en el pos operatorio y se incluyeron a aquellos que presentaron signos y síntomas de infección de herida quirúrgica diagnosticadas por médicos tratantes y residentes de cirugía del servicio.

2. Se llevo a cabo el llenado de las fichas de datos (Anexo 1) a cada paciente diagnosticado de infección de la herida

3. Posteriormente se llevo a cabo la toma de muestra para cultivo por parte del médico residente responsable de cada paciente con las respectivas normas se asepsia y bioseguridad e identificación de las mismas, las mismas que fueron enviadas dentro de las 24 horas al laboratorio de microbilogía para su adecuado recepción y análisis siguiendo el protocolo de recepción de muestras (revisión que la muestra, procesamiento, siembra, lectura de resultados a las 48 horas).

4. Se continuo el esquema antibiótico para cobertura de microorganismos relacionados con el tipo de procedimiento quirúrgico que comprendió para las apendicitis grado I y II (Ampicilna+Sulbactam 1,5g IV c/6 horas por 3 dosis) y para apendicitis grado III y IV Ciprofloxacina 200mg IV c/12h + Metronidazol 500mg IV c/8h). Hasta obtener los resultados del cultivo y antibiograma.

5. Con los resultados de laboratorio se completo la ficha de datos del (Anexo 1) y se procedió a llevar esta información al médico responsable de cada paciente para realizar el cambio de antibiótico

en los casos que presentaron resistencia bacteriana al tratamiento indicado.

PRESENTACION DE RESULTADOS Y TIPO DE TRATAMIENTO:

ESTADISTICO:

- Con los datos obtenidos luego del seguimiento de cada paciente, se realizo la tabulación de los mismos en base a los objetivos planteados para lo cual se usaron cuadros y gráficas utilizando medidas de frecuencia para análisis y discusión de resultados.

RECURSOS:

Materiales:

1. **Para las muestras tomadas**:

- Guantes de látex estéril, solución salina estéril, savlon, gasa estéril, hisopos estériles de algodón, medio de transporte de Stuart o Amies con carbón, tubo estéril.

2. **Para procesamiento de las muestras:**

a) Estufa de 35 – 37° C.

b) Cabina de Flujo laminar o mechero Bunsen.

c) Guantes de látex.

d) Contenedor de material contaminado.

Medios de cultivo:

− Agar sangre de carnero

− Agar Mc Conkey

− En algunos casos se uso otros medios (Agar Columbia CNA con 5% de sangre de carnero)

3. **Recopilación de Información:**

- Libros de Principios de Cirugía y Microbiología de la Biblioteca de Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Loja.

- Internet.

Humanos:

- Pacientes intervenidos quirúrgicamente en Hospital Pablo Arturo Suarez
- Personal médico que realizaron las intervenciones quirúrgicas y toma de muestras de secreción de las heridas infectadas.
- Internos rotativos encargados de llenar la ficha Anexo 1.
- Personal de laboratorio que realizo los cultivos y antibiogramas.

Económicos:

- Material de laboratorio para los cultivos y antibiogramas.
- Lápiz, lapicero
- Fotocopias de material bibliográfico
- Fotocopias de boleta de recolección de datos
- Hojas de papel bond
- Computadora, dispositivo de almacenamiento USB, impresora
- Gasto de transporte

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

TABLA No. 1

GÉRMENES MÁS FRECUENTES ASOCIADOS A INFECCIÓN DE HERIDA QUIRÚRGICA

GERMEN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
E. COLI	32	53%
KLEBSIELLA	6	10%
STAPHYLOCOCCUS AEREUS	4	7%
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	3	5%
PROTEUS	3	5%
PSUDOMONAS	2	3%
STREPTOCOCCUS AEROGENES	2	3%
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	1	1%
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE	1	1%
ENTEROBACTER FAECALIS	1	1%
ENTEROBACTER SAKAZAKI	1	1%
ENTEROBACTER AEROGENES	1	1%
ENTEROBACTER COLACAE	1	1%
STREPTOMONAS MALTOPHILIA	1	1%
CITROBACTER DIVERSUS	1	1%
TOTAL BACTERIAS:	60	100%

Tabla y Gráfico No. 1. El germen más frecuente encontrado en los cultivos de heridas infectadas de Apendicitis Aguda fue E. coli presente en 32 cultivos, el resto de gérmenes encontrados se presentaron en menor número de casos y casi en la misma frecuencia, entre los más importantes Klebsiella en 6cultivos, S. aereus en 4, S. epidermidis en 3s, Proteus en 4, Pseudomona y Streptococcus aerogenes en cultivos respectivamente y el resto de gérmenes encontrados en combinación con otros gérmenes en infecciones mixtas.

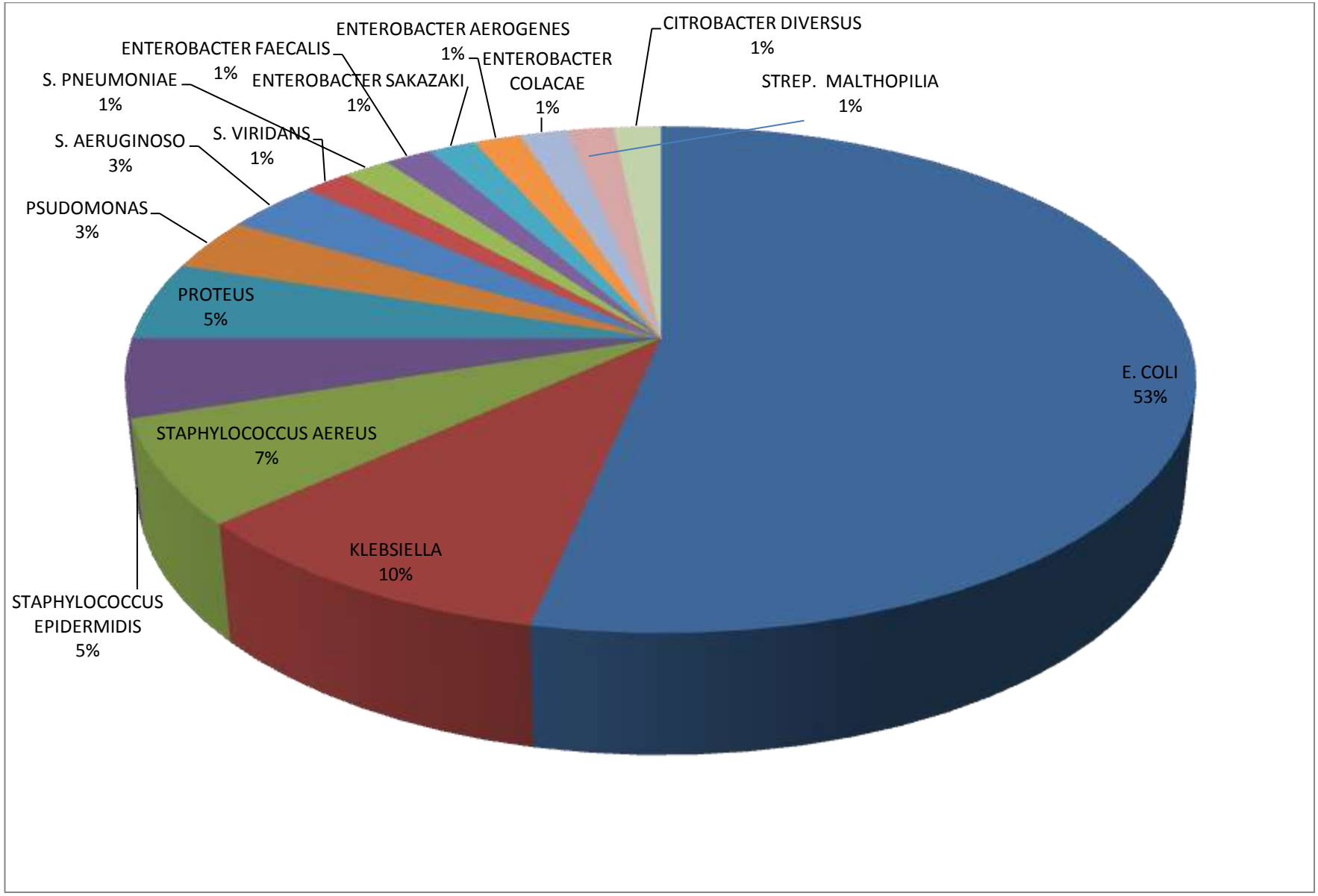

ENTEROBACTER AEROGENES
1%
CITROBACTER DIVERSUS
1%
ENTEROBACTER FAECALIS
1%
ENTEROBACTER
COLACAE
1%
S. PNEUMONIAE
1%
ENTEROBACTER SAKAZAKI
1%
STREP. MALTHOPILIA
1%
S. AERUGINOSO
3%
S. VIRIDANS
1%
PSUDOMONAS
3%
PROTEUS
5%
E. COLI
53%
STAPHYLOCOCCUS AEREUS
7%
KLEBSIELLA
10%
STAPHYLOCOCCUS
EPIDERMIDIS
5%

TABLA No. 2

INCIDENCIA DE INFECCIÓN DE HERIDA OPERATORIA DE APENDICITIS EN EL PERIODO 2011- 2012 EN EL HOSPITAL PABLO ARTURO SUAREZ

HERIDAS NO INFECTADAS	HERIDAS INFECTADAS	TOTAL PACIENTES
441	50	491

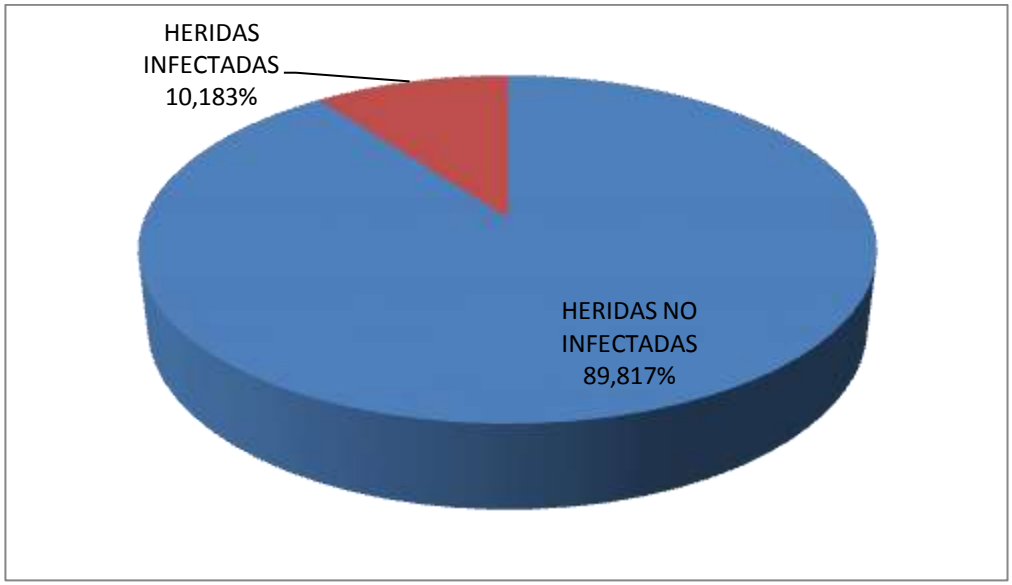


Tabla y Gráfico No. 2. De 491 pacientes intervenidos por Apendicitis Aguda en el Hospital Pablo Arturo Suarez, se determinó que la incidencia de infección de la herida quirúrgica se dio en 50 pacientes correspondientes al 10,18%.

TABLA No. 3

CORRELACIÓN ENTRE EL GRADO DE APENDICITIS Y LOS GÉRMENES IDENTIFICADOS EN LAS HERIDAS INFECTADAS.

GÉRMENES IDENTIFICADOS	GRADO DE APENDICITIS			
	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV
E. COLI	0	0	6	26
KLEBSIELLA	0	0	1	5
STAPHYLOCOCCUS AEREUS	0	0	2	2
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	1	0	0	2
PROTEUS	0	0	1	2
PSEUDOMONAS	0	0	0	2
STREPTOCOCCUS AEROGENES	0	0	0	2
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	0	0	1	0
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE	0	1	0	0
ENTEROBACTER FAECALIS	0	0	0	1
ENTEROBACTER AEROGENES	0	0	1	0
ENTEROBACTER SAKAZAKI	0	0	0	1
ENTEROBACTER CLOACAE	0	0	1	0
STREPTOMONAS MALTOPHILIA	0	0	1	1
CITROBACTER DIVERSUS	0	0	1	0

Tabla y Gráfico No. 3. Los gérmenes que se identificaron con mayor frecuencia en el estudio, fueron en su mayoría Escherichia coli, con 26 cultivos en el grado IV; y, 6 cultivos para el grado III. El segundo germen más identificado fue Klebsiella con 5 cultivos identificados en el grado IV y en un solo 1 cultivo en el grado III. Los demás gérmenes gram negativos fueron encontrados en su mayoría en las Apendicitis Grado III y IV en combinación con otros gérmenes principalmente E. coli. En cuanto a los gérmenes gram positivos el germen más frecuente encontrado fue S. aereus en 4 cultivos de los cuales 2 casos fueron en Apendicitis Grado III y 2 casos en Apendicitis Grado IV, el segundo germen gram positivo fue Staphylococcus epidermidis en 3 cultivos de los cuales 2 fueron apendicitis grado IV y un caso de Apendicitis grado I y Staphylococcus pneumoniae en una apendicitis grado II

GRÁFICO Nº 3

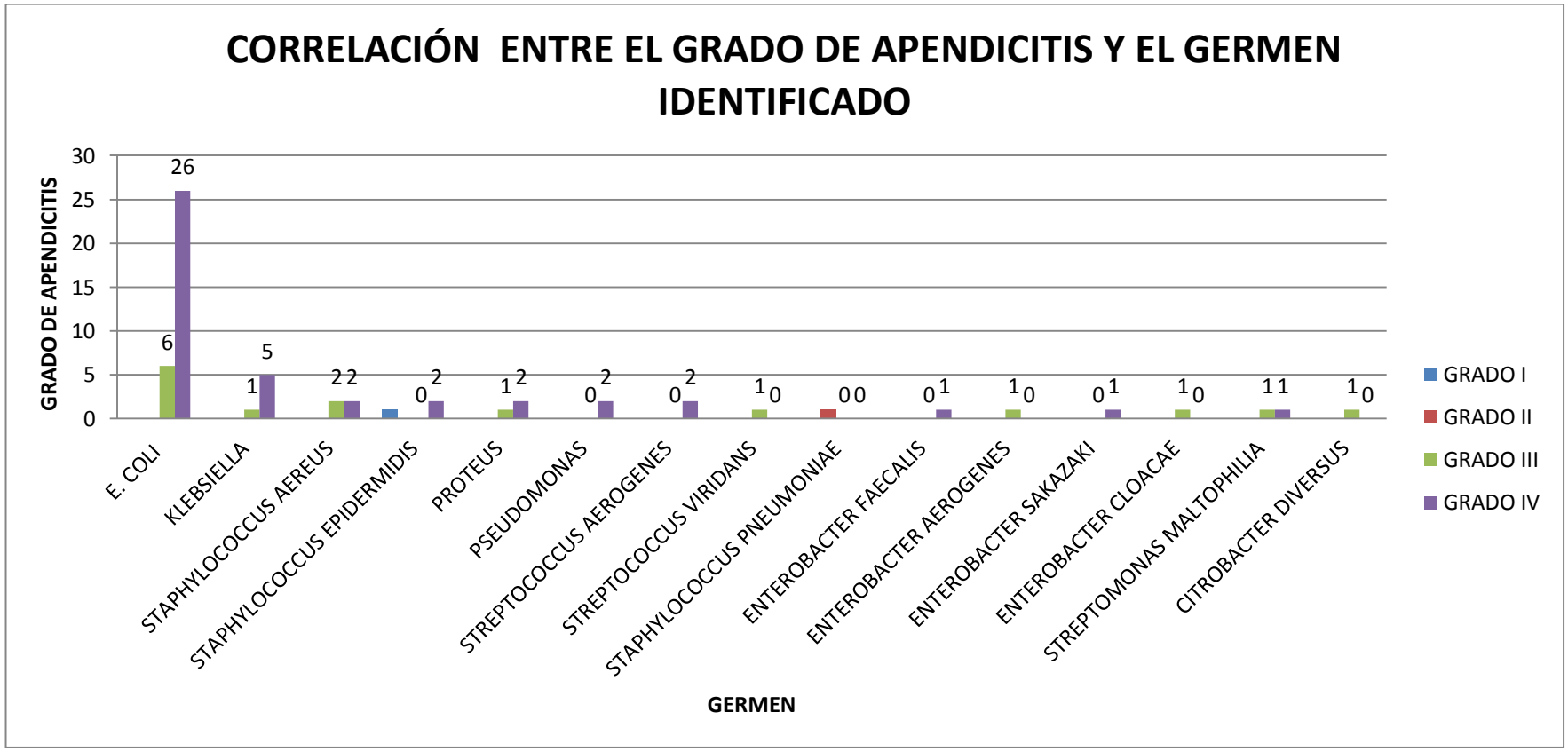

CORRELACIÓN ENTRE EL GRADO DE APENDICITIS Y EL GERMEN IDENTIFICADO
GRADO DE APENDICITIS
30
25
20
15
10
5
0
26
6
5
1
2 2
0 2
1 2
0 2
0 2
1 0
0 0
0 1
1 0
0 1
1 0
1 1
1 0
E. COLI
KLEBSIELLA
STAPHYLOCOCCUS AEREUS
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS
PROTEUS
PSEUDOMONAS
STREPTOCOCCUS AEROGENES
STREPTOCOCCUS VIRIDANS
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE
ENTEROBACTER FAECALIS
ENTEROBACTER AEROGENES
ENTEROBACTER SAKAZAKI
ENTEROBACTER CLOACAE
STREPTOMONAS MALTOPHILIA
CITROBACTER DIVERSUS
GERMEN
GRADO I
GRADO II
GRADO III
GRADO IV

GRAFICO No. 4

HERIDA INFECTADA EN UNA APENDICITIS GRADO I Y GERMEN AISLADO EN EL CULTIVO

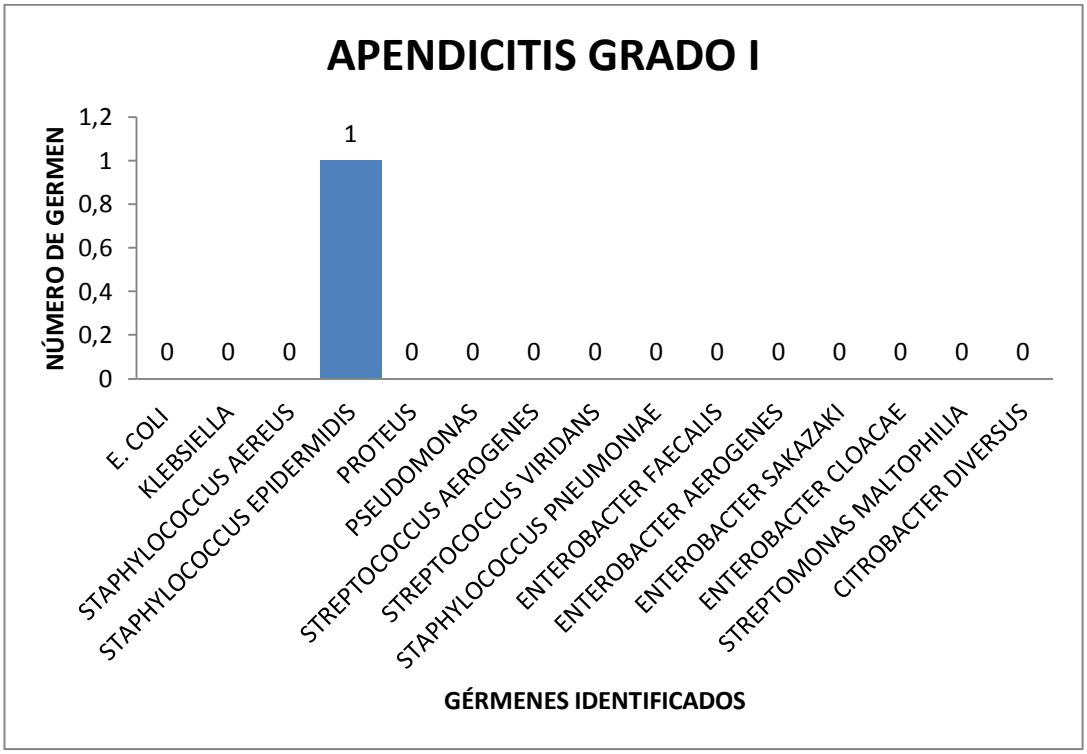


Gráfico 4. En la gráfica podemos observar que en una herida infectada de Apendicitis Grado I se aisló en un cultivo de: Staphylococcus epidermidis.

GRAFICO No. 5

HERIDA INFECTADA EN UNA APENDICITIS GRADO II Y GERMEN AISLADO EN EL CULTIVO

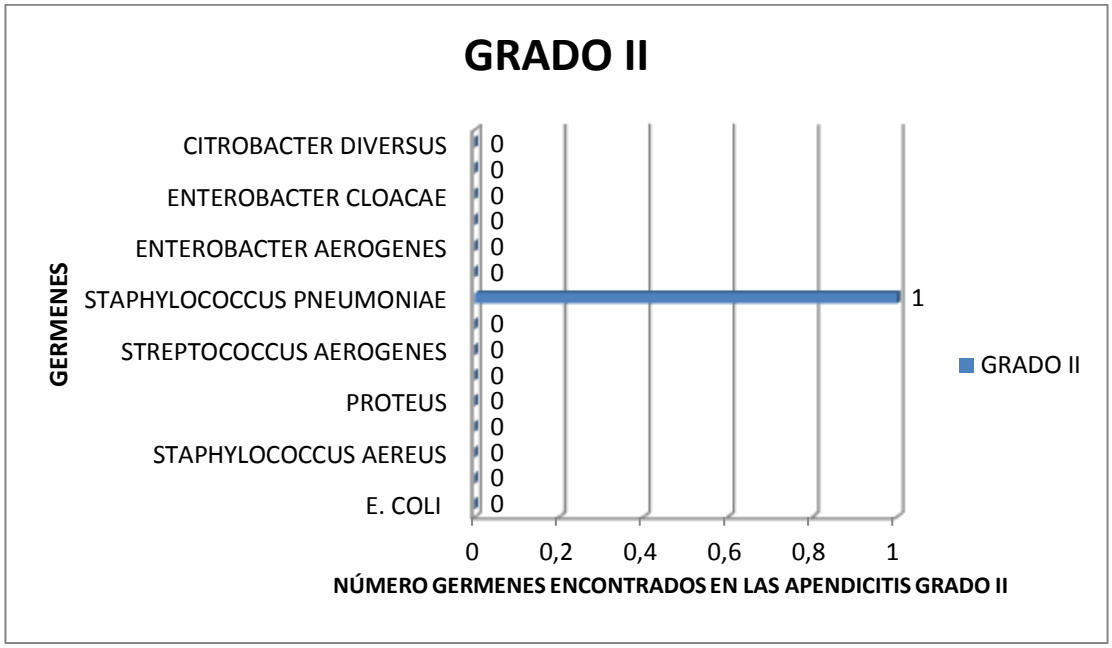


Gráfico 5. Se determina de en una herida infectada de apendicitis grado II se aisló un cultivo de: Staphylococcus pneumoniae.

GRAFICO No. 6

HERIDA INFECTADA EN UNA APENDICITIS GRADO III Y GERMEN AISLADO EN EL CULTIVO

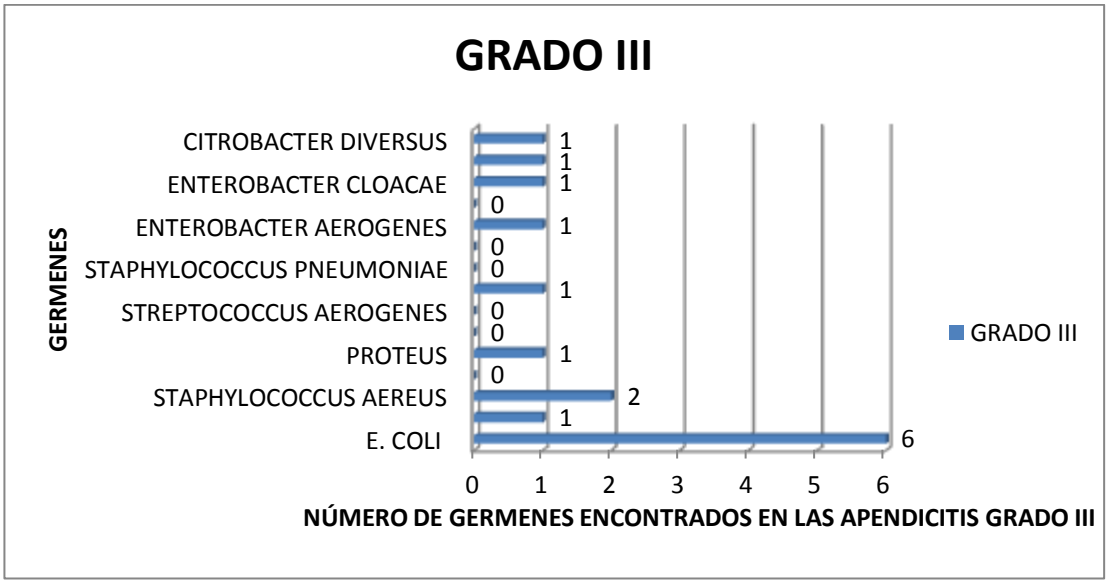


Gráfico No.6 En las infecciones de heridas de apendicitis grado III se encontró con mayor frecuencia 6 cultivos de E. coli, 2 cultivos de S. aereus y en menor frecuencia otros cultivos con micro organismos gram negativos como: Proteus, Citrobacter diversus y otras Enterobacterias.

GRAFICO No. 7

HERIDA INFECTADA EN UNA APENDICITIS GRADO IV Y GERMEN AISLADO EN EL CULTIVO

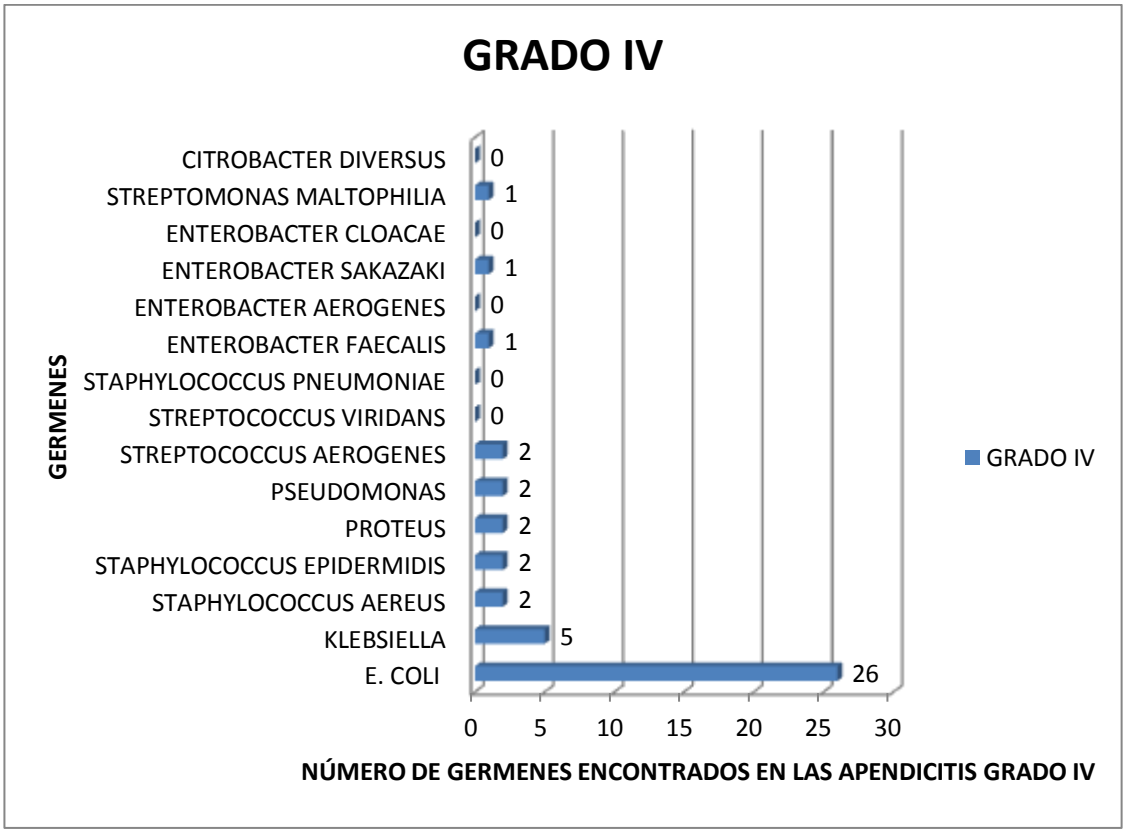


Gráfico No.7. El gráfico nos demuestra que en las heridas infectadas de apendicitis grado IV el germen más frecuente fue E. coli presente en 26 cultivos, Klebsiella en 5 casos, siguiendo en frecuencia S. aereus en 2 cultivos, S. epidermidis en 2 cultivos, Proteus en 2cultivos, Pseudomona en 2 cultivos, Streptococcus aerogenes en 2 cultivos y en menor frecuencia Enterobacterias aisladas en combinación a otros gérmenes en infecciones mixtas.

TABLA No. 4

RELACIÓN ENTRE EL TIEMPO QUIRÚRGICO Y EL TIPO DE GERMEN AISLADO.

GERMEN	TIEMPO QUIRÚRGICO	
	< 2 HORAS	≥ 2 HORAS
E. COLI	15	17
KLEBSIELLA	2	4
STAPHYLOCOCCUS AEREUS	2	2
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	2	1
PROTEUS	2	1
PSEUDOMONAS	0	2
STREPTOCOCCUS AEROGENES	1	1
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	1	0
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE	1	0
ENTEROBACTER FAECALIS	0	1
ENTEROBACTER AEROGENES	0	1
ENTEROBACTER SAKAZAKI	0	1
ENTEROBACTER CLOACAE	1	0
STREPTOMONAS MALTOPHILIA	1	0
CITROBACTER DIVERSUS	0	1
TOTAL	**28**	**32**

Tabla No. 4 En el estudio realizado no existe diferencia en cuanto al germen iidentificado y el tiempo quirúrgico ya que se encontró que en un tiempo mayor o igual a 2 horas se identificaron 32 gérmenes y en el tiempo menor de 2 horas 28 gérmenes, es decir no hubo mayor diferencia en la aparición de gérmenes según el tiempo quirúrgico.

GRAFICO No. 8

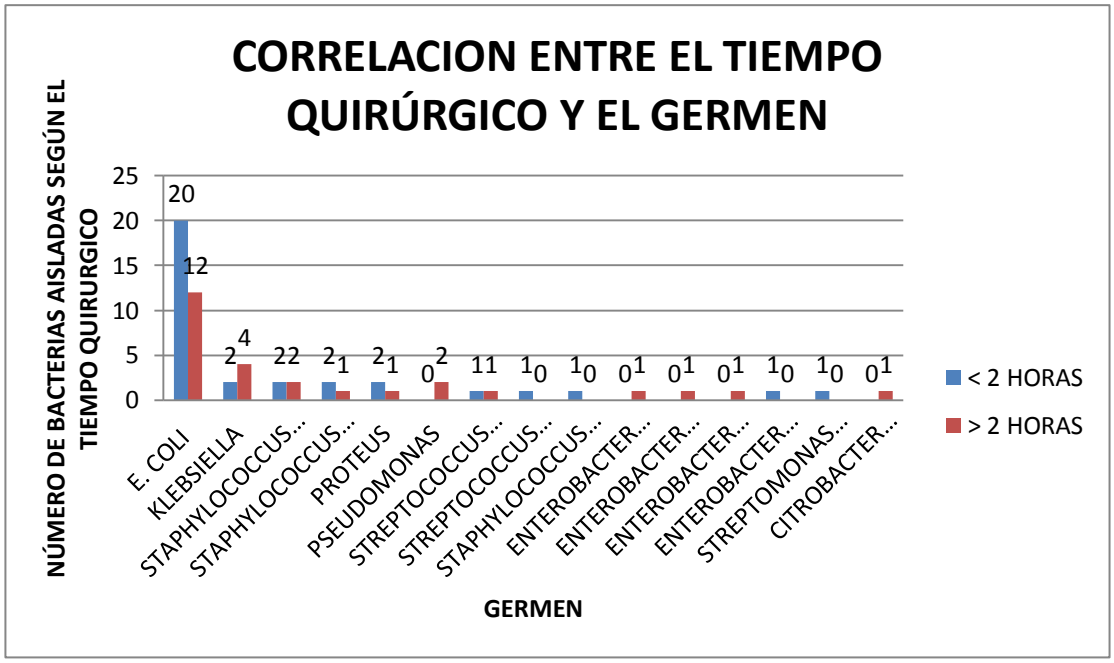


Grafico No. 8. En el estudio realizado no existe diferencia en cuanto al germen identificado y el tiempo quirúrgico ya que se encontró que en un tiempo mayor o igual a 2 horas se identificaron 32 gérmenes y en el tiempo menor de 2 horas 28 gérmenes es decir no hubo mayor diferencia en la aparición de gérmenes según el tiempo quirúrgico.

TABLA No. 5

AGENTE CAUSAL RELACIONADO CON EL SITIO DE INFECCIÓN

GERMEN	SITIO DE INFECCIÓN		
	SUPERFICIAL	PROFUNDO	ORAGANO/CAVIDAD
E. COLI	21	6	5
KLEBSIELLA	2	2	2
STAPHYLOCOCCUS AEREUS	4	0	0
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	3	0	0
PROTEUS	1	2	0
PSEUDOMONAS	1	0	1
STREPTOCOCCUS AEROGENES	1	1	0
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	1	0	0
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE	1	0	0
ENTEROBACTER FAECALIS	0	0	1
ENTEROBACTER AEROGENES	0	1	0
ENTEROBACTER SAKAZAKI	0	0	1
ENTEROBACTER CLOACAE	1	0	0
STREPTOMONAS MALTOPHILIA	1	0	0
CITROBACTER DIVERSUS	0	1	0
TOTAL:	**37**	**13**	**10**

Tabla No. 5 El cuanto al sitio de infección y el germen encontrado se determinó que en las infecciones de tipo superficial, profundo y de órgano cavidad el germen más frecuente fue E. coli el mismo que se presentó en 21 cultivos de infección de tipo superficial, 6 cultivos de infección de tipo profundo y 5 cultivos de infecciones de órgano cavidad. Los demás gérmenes identificados en los cultivos de heridas se presentaron en mayor frecuencia en las infecciones de tipo superficial en las que se encontró principalmente gérmenes gram positivos como son: S. aereus en 4 cultivos, S epidermidis en 3 cultivos y otros cultivos con gérmenes gram negativos en menor número. Los pocos gérmenes gram negativos encontrados en los cultivos de infecciones profundas y de órgano cavidad fueron parte de infecciones mixtas.

GRAFICO No. 9

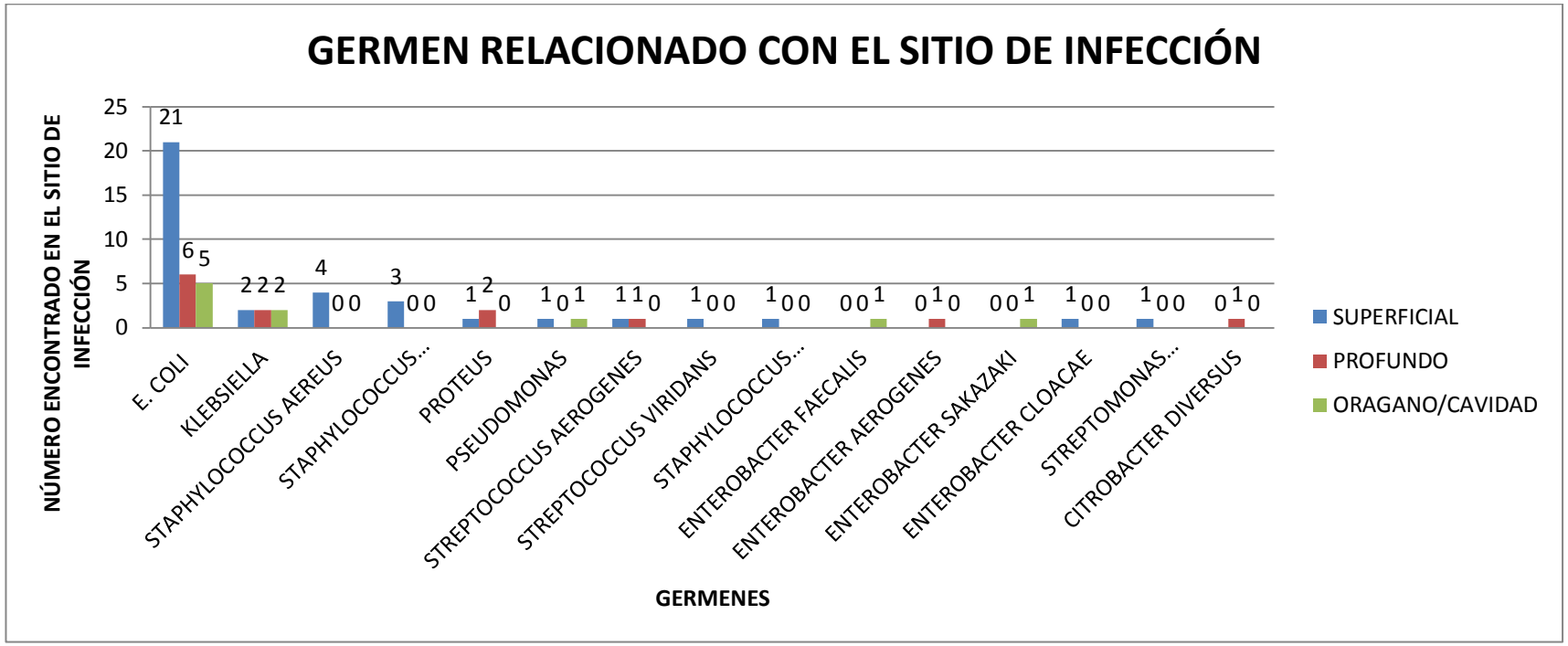


Grafico No. 9: El cuanto al sitio de infección y el germen encontrado se determinó que en las infecciones de tipo superficial, profundo y de órgano cavidad el germen más frecuente fue E. coli el mismo que se presentó en 21 cultivos de infección de tipo superficial, 6 cultivos de infección de tipo profundo y 5 cultivos de infecciones de órgano cavidad. Los demás gérmenes identificados en los cultivos de heridas se presentaron en mayor frecuencia en las infecciones de tipo superficial en las que se encontró principalmente gérmenes gram positivos como son: S. aereus en 4 cultivos, S epidermidis en 3 cultivos y otros cultivos con gérmenes gram negativos en menor número. Los pocos gérmenes gram negativos encontrados en los cultivos de las infecciones profundas y de órgano cavidad fueron parte de infecciones mixtas.

GÉRMENES QUE PRESENTARON RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS

GERMEN	ANTIBIÓTICOS MAS UTILIZADOS					
	AMPICILINA+ SULBACTAM	CEFTRIAXONA	AMOXICILINA + AC. CLAVULÁNICO	CIPROFLOXACINA	AMIKACINA	GENTAMICINA
E. COLI	2	0	2	9	4	2
KLEBSIELLA	1	0	0	4	0	0
STAPHYLOCOCCUS AEREUS	0	0	0	0	0	0
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	0	0	0	0	0	0
PROTEUS	0	0	0	0	0	0
PSEUDOMONAS	0	0	0	0	0	0
STREPTOCOCCUS AEROGENES	0	0	0	0	0	0
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	0	0	0	0	0	0
STAPHYLOCOCCUS PNEUMONIAE	0	0	0	0	0	0
ENTEROBACTER FAECALIS	0	0	0	1	0	0
ENTEROBACTER AEROGENES	0	1	0	0	0	0
ENTEROBACTER SAKAZAKI	0	0	0	1	0	0
ENTEROBACTER CLOACAE	0	0	0	0	0	0
STREPTOMONAS MALTOPHILIA	0	0	0	0	0	0
CITROBACTER DIVERSUS	0	0	0	0	0	0

Tabla No. 6: Los gérmenes que presentaron mayor resistencia bacteriana fueron E. coli y otras bacterias gram negativas como Klebsiella y Enterobacterias, se presentó mayor resistencia a la Ciprofloxacina en 9 casos a la Amikacina en 4 casos y la Ampicilina + Sulbactam en 2 casos.

GRAFICO No. 10

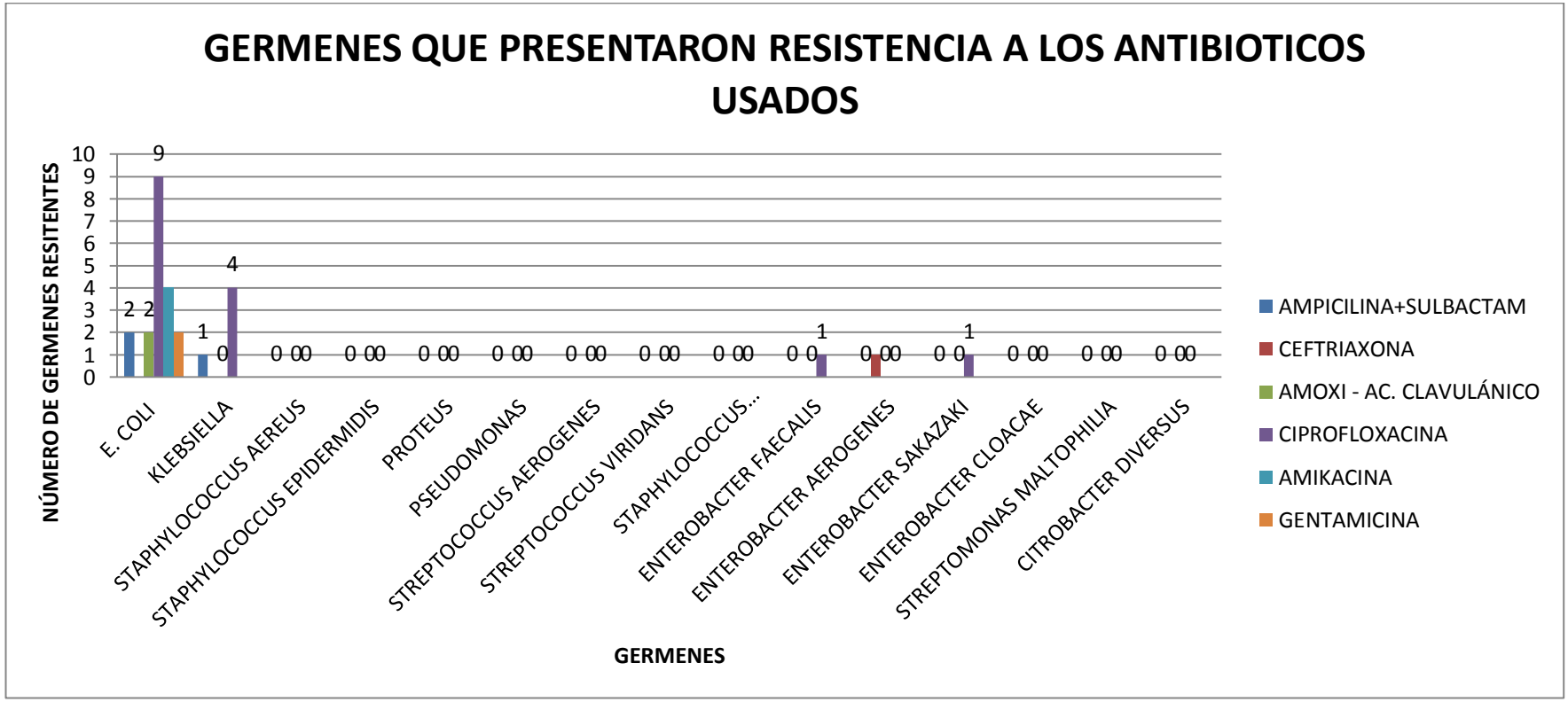


Gráfico No. 10: Los gérmenes que presentaron mayor resistencia bacteriana fueron E. coli y otras bacterias gram negativas como Klebsiella y Enterobacterias, se presentó mayor resistencia a la Ciprofloxacina en 9 casos a la Amikacina en 4 casos y la Ampicilina + Sulbactam en 2 casos.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

"Toda herida quirúrgica es susceptible de infectarse", sin duda alguna la infección de herida operatoria sigue siendo una de las complicaciones más frecuentes, ocupando el segundo lugar en los estudios de la incidencia de infección nosocomial, a su vez ocupando el primer lugar en las complicaciones infecciosas postquirúrgica, debido a éstas complicaciones se eleva la morbilidad y la mortalidad por ende la estancia y los costos hospitalarios."

Se han identificado algunos de los factores asociados a la incidencia de infección de herida operatoria como son: la edad, enfermedades preexistentes, procedimientos de emergencia, duración de la hospitalización pre-operatoria, instrumentos quirúrgicos estériles, técnica de antisepsia en la piel del paciente, técnica correcta de lavado de manos, tiempo quirúrgico empleado, perforación de los guantes quirúrgicos. El adecuado control de estos factores disminuye considerablemente al mínimo la incidencia de infección de herida operatoria.

La microbiología de la IFQ está relacionada con la flora bacteriana presente en la región anatómica expuesta durante una intervención concreta. Staphylococcus aureus sigue siendo el patógeno más frecuente en las IFQ, sin embargo en la cirugía limpia contaminada y contaminada la causa más frecuente es Escherichia coli y otras enterobacterias[11].

Podemos observar que los datos que mencionan la literatura se relacionan con los obtenidos en el presente estudio ya que en el año del 2011 en el Hospital Pablo Arturo Suárez, se realizaron 491 Apendicectomías y se les dio

[11]SABISTON. Tratado de Cirugía. Volumen II. Cicatrización de Heridas. Cap.8 pag: 183-205.

seguimiento a 50 pacientes que presentaron signos de infección de la herida; realizándose cultivo y antibiograma de la secreción de herida encontrándose que, el germen más frecuente identificado en las heridas de apendicitis aguda que en la mayoría fueron grado III y IV las mismas que se corresponden con cirugías contaminadas el germen fue Escherichia coli en 32 pacientes; continuando en frecuencia con Klebsiellaen 6 pacientesy Staphylococcus aereusen 4 pacientes. **(Tabla y Gráfico No. 1)**.

En relación a los casos que se infectaron se puede mencionar que:

a) Incidencia de Infección de Heridas Operatorias:

Las infecciones de herida quirúrgica, se producen en hasta un 20% de los pacientes sometidos a intervenciones intra abdominales urgentes[12].

En el presente estudio se encontró que en el período comprendido marzo 2011-2012 se realizaron 491 cirugías de apendicetomía como procedimiento de urgencia las cuales presentaron infección en 50 casos (10.18%). (**Tabla y Grafico No.2**)

b) Correlación entre el germen identificado en cultivos de heridas infectadas con el grado de apendicitis:

La clasificación de una herida busca establecer definiciones que ayuden a predecir la posibilidad de infección de las heridas con base en el grado de contaminación bacteriana postoperatoria. En las infecciones limpias contaminadas, los gérmenes recuperados son gran positivos y gran negativos (75 a 85%) aunque más frecuentemente corresponden a los de la víscera en cuestión. Gérmenes entéricos gram negativos aerobios como E. coli y Klebsiella pneumoniae y Anaerobios. Son los responsables de esas infecciones. El riesgo de infección para heridas limpias contaminadas es de

[12]Lena Napolitano. CLÍNICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMÉRICA. Cuidado Perioperatorio: Medidas para disminuir el riesgo y mejorar la evolución de los pacientes quirúrgicos. 2005. Volumen 85. Pag: 1115-1131.

5-11% y de las contaminadas es 10-17%; superior al 27% para las heridas sucias[13].

La relación de cada tipo de bacteria con el grado de apendicitis se dio con mayor frecuencia en las bacteria gram negativas. Se hallaron 26 gérmenes de E. colien Apendicititis Grado IV **(Tabla 3y Grafico No. 7)**que corresponde a la clasificación contaminada relacionándose con las cifras esperadas según lo mencionado. Además se encontró Klebsiella 5 casos en Apendicitis Grado IV **(Tabla 3 y Gráfico No. 7).**

c) **Correlación entre el tiempo quirúrgico empleado y la bacteria identificada:**

Distintos estudios han identificado al tiempo quirúrgico como una variable independiente asociada con el riesgo de infección de herida. Originalmente se utilizó un valor de corte de 2 horas, influyendo a través de diferentes factores entre ellos mayor tiempo de exposición de la herida, mayor traumatismo de los tejidos y mayores dificultades técnicas[14].

En este estudio se determinó que el tiempo quirúrgico empleado no presento mayor importancia ya que no hubo diferencia significativa entre el tiempo < de 2 horas y > o = a 2 horas, independientemente del tiempo quirúrgico el germen más frecuente aislado fue E. coli presente en 15 casos de tiempo < de 2 horas y en 17 casos de tiempo > o = a 2 horas, lo mismo sucede con los demás microorganismos encontrados están presentes en casi iguales proporciones en estos espacios de tiempo quirúrgico. Por lo cual en este estudio el tiempo quirúrgico no fue un determinante de infección.

d) **Correlación entre el sitio de infección y el germen encontrado**:

La infección del sitio operatorio se clasifica en 3 tipos según el nivel anatómico: Superficial (piel y TCS); Profunda (fascia y músculo) y

[13]Pedro Ferraina, Alejandro Oría. CIRUGÍA DE MICHANS. Sección I: Heridas y Cicatraización. Pag.60-78. 5ta. Edición. 2002.
[14]Haley RW, Culver DH, Morgan WM, White JW, Emori TG, Hooton TM. Identifying patients athigh risk of surgical wound infection. Am J Epidemiol 1985; 121: 206-15.

Órgano/cavidad. Las de tipo superficial son las más frecuentes ya que representan el 60 al 80% en las cuales el germen más frecuente es S. aureus alcanzando hasta el 20% de las ISO, seguido de S. coagulasa negativo 12 a 14%; E. coli 8 a 10%[15]. Estos datos se relacionan con el estudio realizado en cuanto al sitio de infección más frecuente ya que la mayoría de infecciones fue de tipo superficial pero a diferencia de los gérmenes esperados en este estudio el germen más frecuente fue E. coli en 21 casos y luego S. aereus con 4 casos, siguiendo en frecuencia S. epidermidis 3 casos.

e) **Resistencia bacteriana y gérmenes**:

La colonización del paciente con microorganismos resistentes a los esquemas antimicrobianos usados, aumenta el riesgo de infección de la herida quirúrgica. Del mismo modo el empleo de antimicrobianos en profilaxis quirúrgica produce modificaciones de la flora del huésped, aumentando la recuperación de microorganimos resistentes. En el origen de la resistencia intervienen múltiples factores, es posible establecer dos tipos la natural y adquirida[16].

En este estudio se demuestra que hay resistencia bacteriana en su mayoría por gérmenes gram negativos E. coli en 9 casos y Klebsiella en 4 casos a la Ciprofloxacina, que es utilizado como antibiótico terapia en apendicitis grado III y IV seguido de la Ampicilina+ Sulbactam antibiótico usado como profilaxis antibiótica en apendicitis grado I y II.

---

[15] 23. http://www.google.com.pe/search?q=infeccion+del+sit io+operatorio&hl=es&tbo=1&tbm=bks&ei=K662TZzwNInu0gHJtIn5Dw&start=10&sa=N

[16] 24.Archer GL. Alteration of cutaneous staphylococcal flora as a consequence of antimicrobial prophylaxis. Rev Infect Dis 1991; (suppl 10) 13: S805-S809.

CONCLUSIONES

1. De los casos de apendicitis aguda intervenidos en el Hospital Pablo Arturo Suarez de Quito durante el año 2011-2012, se demostró mediante cultivos realizados de las heridas infectadas que el germen más frecuente encontrado fue Escherichia coli.

2. En el Hospital Pablo Arturo Suárez de Quito la incidencia de infección de herida quirúrgica por Apendicitis es 10,18%.

3. Existe correlación entre el germen más frecuente encontrado E. coli y el grado de apendicitis aguda, en este caso Grado III y IV que corresponden a heridas limpias contaminadas y contaminadas en las que los gérmenes causantes de infección son de tipo entérico.

4. En este estudio se determinó que el tiempo quirúrgico empleado no influyo en la aparición de gérmenes encontrados en las heridas infectadas ya que el principal germen encontrado tanto en tiempo < de 2 horas y > o = a 2 horas fue E. coli que es un germen de la flora entérica, lo cual nos indica que posiblemente el desarrollo de infección pudo haber sido por falta de medidas de aislamiento del campo operatorio durante el transoperatorio y no por el tiempo quirúrgico.

5. El agente causal según el tipo de infección de herida que se presentó en más pacientes fue E. coli ya que estuvo presentes tanto en las infecciones de tipo superficial, profunda y de órgano/cavidad. Otros gérmenes encontrados según el tipo de infección fueron S. aereus en las de tipo superficial y otros gram negativos mientras que en las

infecciones de tipo profundo y de órgano/cavidad fueron predominantemente gram negativos y que se presentaron en combinación con otros gérmenes en infecciones mixtas.

6. Se determinó que el germen Escherichia coli presento mayor porcentaje de resistencia a la Ciprofloxacina.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda al personal médico que en el transoperatorio se tenga en cuenta realizar una buena técnica quirúrgica que incluya aislar el contenido intestinal de la herida para evitar el contacto con los microorganismos de la flora entérica y así evitar infección además de una manipulación cuidadosa, conservación de vasos sanguíneos, hemostasia, supresión de tejido desvascularizado, cierre anatómico sin tensión; ya que son pautas que pueden disminuir el riesgo de infección.

2. Se recomienda realizar el diagnóstico y tratamiento de apendicitis aguda tempranamente ya que si aumentan las horas de evolución hay mayor riesgo de perforación, interviniéndose por esta situación apendicitis complicadas que por lo general son cirugías contaminadas y limpias contaminadas en las cuales hay más riesgo de infección de heridas quirúrgica.

3. Se recomienda disminuir el uso de Ciprofloxacina como antibiótico profilaxis y antibiótico terapia sobretodo en el manejo de Apendicitis grado III y IV que es en los pacientes que más se utiliza, ya que se demuestra que hay resistencia bacteriana sobre todo por E. coli que es el germen más frecuente encontrado en estas heridas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lena Napolitano. CLINICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMERICA. Cuidado Perioperatorio: Medidas para disminuir el riesgo y mejorar la evolución de los pacientes quirúrgicos. 2005. Volumen 85. Pag: 1115-1131.

2. SABISTON. Tratado de Cirugía. Volumen II. Cicatrización de Heridas. Cap.8 pag: 183-205.

3. SCHWARTZ. PRINCIPIOS DE CIRUGÍA. Cap.5: Infecciones Quirúrgicas. VOL. I. Octava Edición. 2005.

4. Pedro Ferraina, Alejandro Oría. CIRUGIA DE MICHANS. Sección I: Heridas y Cicatraización. Pag.60-78. 5ta. Edición. 2002.

5. ACEITUNO ESPAÑA, MARVIN LEONEL. Infección de Herida operatoria en pacientes postoperados de cirugía electiva. Tesis de Medico y Cirujano de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 1992.

6. AJPOP LEIVA, ELSA DEL ROSARIO. Incidencia de Infección Nosocomial de Herida Operatoria en pacientes intervenidos quirúrgicamente en el hospital de Amatitlán. Tesis de Medico y Cirujano de la Universidad de San Carlos De Guatemala. 1997.

7. ALTUVE SERRANO, JUAN ARTURO. Perfil Epidemiológico de las infecciones quirúrgicas en el Hospital San Juan de Dios. Tésis de Médico y Cirujano de la Universidad de San Carlos de Guatemala. 1997.

8. ANDALO, Paula. POR QUE HAY MAS CASOS DE INFECCIONES HOSPITALARIAS. CONCLUSIONES DE UN CONGRESO ARGENTINO. Mayo 1998. Buenos aires Argentina.

9. BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO DE INFECCIONES NOSOCOMIALES, Hospital Regional de Cobán, Alta Verapaz, Guatemala. Año 2, No. 2. Julio 1999.

10. BOLETÍN DE PROTOCOLO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA PARA INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS. Dirección seccional de Salud Antioquia. 1994.

11. CONDON, Robert. Nyhus, Lloyd. INFECCIÓN DE LAS HERIDAS Y LOS TEJIDOS BLANDOS. Manual de Terapéutica Quirúrgica. Cuarta edición. Little, Brown and company. Boston USA. 1991.

12. COTRAN, Ranzi; Kumar, Vinay; Robins, Stanley. PATOLOGÍA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL. Editorial interamericana. España 1990.

13. DOHERTY, GERARD. BAUMANN, DIRK. CRESWELL, LAWRENCE. Wound care. The Washington Manual of Surgery. Editorial Nancy E. Chorpenning. Washington, EE.UU. 1997. 143 – 155 p.

14. MEZA V., Luis Fernando. Correa O., Liliana María. HERIDAS QUIRÚRGICAS, Propuesta quirúrgica, Septiembre 1997, Manizales, Colombia

15. PROFILAXIS ANTIBIÓTICA EN CIRUGÍA . INFECTOLOGIA, Mayo 1995, Numero 5. Volumen 15. 234 – 235 p.

16. PROMIS, Gustavo. VILLABLANCA, Lilián. INFECCIÓN DE LA HERIDA QUIRÚRGICA. Revista Chilena de cirugía, diciembre 2000. Volumen 52. No. 6.

17. ROBSON, Martín C. INFECCIÓN DE HERIDAS. CLINICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMÉRICA. Editorial interamericana, México. Año 1997. Volumen 3. 639 – 649 p.

18. SAWYER, Robert. Preutt, Timothy. INFECION DE LAS HERIDAS. CLINICAS QUIRÚRGICAS DE NORTEAMÉRICA. Editorial interamericana. Año 1994. Volumen 3. 549 – 566 p.

19. SCHWARTZ, Seymour. Hellis, H. Cowles, W. OPERACIONES ABDOMINALES MAINGOT, MANEJO DE LA HERIDA, Novena edición, Buenos aires, Argentina. 2000. Editorial Panamericana. 257 p.

20. UNIVERSIDAD DE CHILE, SEDE ORIENTE, CENTRAL DE APUNTES DE MEDICINA 5, Infecciones intra hospitalarias. Universidad de Chile 2000.

21. WYNGAARDEN, James; Smith, Lloyd. PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA DE CECIL. Editorial interamericana. México D. F. 1996.

22. Haley RW, Culver DH, Morgan WM, White JW, Emori TG, Hooton TM. Identifying patients at high risk of surgical wound infection. Am J Epidemiol 1985; 121: 206-15.

23. http://www.google.com.pe/search?q=infeccion+del+sitio+operatorio&hl=es&tbo=1&tbm=bks&ei=K662TZzwN Inu0gHJtIn5Dw&start=10&sa=N

24. Archer GL. Alteration of cutaneous staphylococcal flora as a consequence of antimicrobial prophylaxis. Rev Infect Dis 1991; (suppl 10) 13: S805-S809.

25. Koneman E, Allen S, Dowell V, Sommers H. Diagnóstico microbiológico. 3ª.Ed Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 1992.

26. Miller J. Michael, Holmes H. Specimen collection, transport and storage. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC. Yolken RH. Manual of Clinical Microbiology. 7a ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1999. pp 33 - 63.

27. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana / autores, Stephen
J. Cavalieri ... [et al.] ; editora coordinadora, Marie B. Coyle.

ANEXOS

ANEXO. 1

1. Historia Clínica:

2. Signos Vitales:

TA: ……. FC: ……. FR: ……. T°: …….

4. Signos y Síntomas de Infección de Herida Quirúrgica:

Eritema ( )
Edema ( )
Dolor ( )
Exudado Purulento ( )
Distensión Abdominal ( )
Vómitos ( )
Diarrea ( )

5. Sitio de Infección:

Superficial: ( )
Profundo: ( )
Órgano/espacio: ( )

6. Grado de Apendicitis:

Catarral ( )
Supurativa ( )
Gangrenosa ( )
Perforada ( )

7. Tiempo Quirúrgico:

< 2 horas:
> 2 horas:

Cultivo Positivo con UFC: ……

2. Germen Aislado:

- Echerichia coli ( )
- Staphylococcus aureus ( )
- Staphylococcus epidermidis ( )
- Klebsiella ( )
- Proteus ( )
- Serratia ( )
- Pseudomona ( )

- Otros :
  ……

10. ANTIBIOTICO PROFILAXIS SI……. NO……

11. CUAL
…….

SENSIBILIDAD (S); RESISTENCIA ® PARA

AMPICILINA ( )	AMOXICILINA-IBL ( )
GENTAMICINA ( )	TRIMETROPIN – SULFAMETOXAZOL( )
AMIKACINA ( )	CIPROFLOXACINA ( )
IMEPENEM ( )	CLINDAMICINA ( )
CEFTRIAXONE ( )	LINEZOLID ( )
AMP-SULB ( )	AZTREONAM ( )
VANCOMICINA ( )	CEFEPIME ( )
CEFUROXIMA ( )	MEROPENEM ( )
FOSFOMICINA ( )	LEVOFLOXACINA ( )
CEFALEXINA ( )	
PIP /TAZ ( )	

ANEXO. 2

CRONOGRAMA

Tiempo: Meses semanas / Actividades	Marzo 2011				Abril 2011				Mayo - Julio 2011				Agosto - Diciembre 2011				Enero -Mayo 2012				Junio-Agosto 2012.				Septiembre – Diciembre 2012			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Selección y Delimitación del Tema.																												
Elaboración del Proyecto.																												
Presentación y Aprobación del Proyecto.																												
Elaboración de los instrumentos																												
Trabajo de Campo (Recolección de la Información).																												
Organización y manejo de la Información.																												
Análisis, Tabulación e Interpretación de Resultados.																												
Elaboración del Informe.																												
Disertación y Socialización de la Investigación																												