UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATÓRIO CLÍNICO

TEMA:

IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS, MEDIANTE LA TÉCNICA DE HEMOCULTIVO EN NEONATOS, DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA.

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

AUTOR

JACKSON IVÁN SALAZAR BRICEÑO

DIRECTORA

DRA. MARCIA MENDOZA

LOJA – ECUADOR

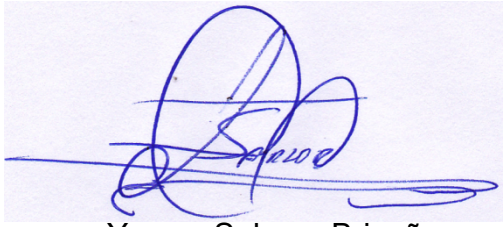
2013

TITULO

IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS, MEDIANTE LA TÉCNICA DE HEMOCULTIVO EN NEONATOS, DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA.

AUTORÍA

Todos los contenidos utilizados en el presente trabajo, fueron basados en la recopilación de varios textos impresos, paginas publicadas en el internet e investigaciones realizadas y adaptados a mi tema de investigación. Por tal todos, los conceptos, opiniones, discusión de resultados obtenidos, conclusiones y recomendaciones vertidas en la presente tesis son de exclusiva responsabilidad del autor.



YacsonSalazar Briceño

CERTIFICACIÓN

Dra. Marcia Mendoza

DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, ÁREA DE LA SALUD HUMANA, CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO y Directora de tesis.

C E R T I F I C A:

Haber dirigido el presente trabajo de investigación titulado **"IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS, MEDIANTE LA TÉCNICA DE HEMOCULTIVO EN NEONATOS, DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA."**, propuesto por el Señor Yacson Iván Salazar Briceño, el mismo que ha sido desarrollado bajo mi orientación y revisión, durante todo el proceso de elaboración, por lo que apruebo su estructura y contenido, certificando su autenticidad y autorizo su presentación.

Dra. Marcia Mendoza

DIRECTORA DE TESIS

AGRADECIMIENTO

Dejo constancia de mis más sinceros agradecimientos a los catedráticos de la Universidad Nacional de Loja, Área de Salud Humana de la Carrera de Laboratorio clínico de la ciudad de Loja, por las enseñanzas que supieron impartir durante mi formación profesional.

Mi gratitud de manera especial a mi directora de tesis Dra. Marcia Mendoza, quien supo guiarme en el desarrollo y culminación de mi trabajo investigativo.

A mi Docente Lic. Carmen Ullauri gracias por sus consejos y a su experiencia he aprendido demasiado.

A mis compañeros de clases quienes me acompañaron en esta trayectoria de aprendizaje y conocimientos.

En general quisiera agradecer a todas y cada una de las personas que conforman el Laboratorio clínico del Hospital regional Isidro Ayora que han vivido conmigo la realización de esta tesis, que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos que desde lo más profundo de mi corazón les agradezco el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo pero sobre todo cariño y amistad.

Yacson Iván Salazar

DEDICATORIA

A mi padre, por estar siempre en los momentos importantes de mi vida, por ser el ejemplo para salir adelante y por los consejos que han sido de gran ayuda para mi vida y crecimiento. Esta tesis es el resultado de lo que me has enseñado en la vida, ya que siempre has sido una persona honesta, entregada a tu trabajo, y un gran líder, pero más que todo eso, una gran persona que siempre ha podido salir adelante y ser triunfador. Es por ello que hoy te dedico este trabajo de tesis. Gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida.

A mi Abuelita (+), que con la sabiduría de Dios me has enseñado a ser quien soy hoy. Gracias por tu paciencia, por enseñarme el camino de la vida, gracias por tus consejos, por el amor que me has dado y por tu apoyo incondicional en mi vida. Gracias por llevarme en tus oraciones porque estoy seguro que siempre lo haces,

A mi Madre, por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en todo momento. Gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo que hemos vivido juntos, por los regaños que me merecía y que no entendía. Gracias Mamá por estar al pendiente durante toda esta etapa.

A mis hermanos Roddy, Cecibel, y Jessica, que con su amor me han enseñado a salir adelante. Gracias por su paciencia, gracias por preocuparse por su hermano mayor, gracias por compartir sus vidas, pero sobre todo, gracias por estar en otro momento tan importante en mi vida.

A mi sobrinito, Jhoan David a quien adoro y llena mi vida de alegrías.
A todo el resto de familia y amigos que de una u otra manera me han llenado de sabiduría para terminar la tesis.

YacsonIván Salazar

RESUMEN

La sangre de los individuos sanos es estéril. La presencia de bacterias en sangre es definida como bacteriemia y se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos. La invasión del torrente sanguíneo se produce desde un foco primario, vía sistema linfático al sistema vascular o entrada directa por infecciones intravasculares o a través de dispositivos como catéteres o agujas.

La importancia de este trabajo en vista de que no se conoce la prevalencia de septicemia en recién nacidos en nuestra Ciudad. El presente trabajo de investigación titulado "Identificación de agentes bacterianos, mediante la técnica de hemocultivo en Neonatos, del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja en el periodo Febrero – Mayo 2013." Tiene como objeto conocer la Identificación de las bacterias más frecuentes en muestras de sangre en Neonatos, aplicando la técnica de Hemocultivo y determinar la frecuencia de bacterias según edad y género de los neonatos, por medio de un estudio prospectivo cualí-cuantitativo, transversal cuyo grupo de estudio estuvo conformado por 122 Neonatos hospitalizados en el Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja. Fueron procesadas y analizadas 122 muestra, a las cuales se les realizó tinción de Gram para diferenciar bacterias positivas y negativas, y finalmente se realizó pruebas bioquímicas, tanto para Gram positivos como: catalasa, coagulasa y novobiocina para diferenciar especies de *Staphylococcus* y para Gram negativos: TSI, Citrato, Urea, SIM y Lisina

El resultado del estudio determinó que en 122 análisis se encontró 7 casos positivos que constituye el 5,7%, de ellos 4,1% corresponde a *Staphylococcus epidermidis*, siendo la bacteria de mayor frecuencia en recién nacidos.

Palabras clave: Hemocultivos, neonatos, bacterias.

SUMMARY

The blood of healthy individuals is sterile. The presence of bacteria in the blood is defined as bacteremia and is evidenced by their isolation from blood cultures. The bloodstream invasion occurs from a primary focus, via the vascular system lymphatic system or direct entry intravascular infections or through devices such as catheters or needles.16

The importance of this work given that no known prevalence of sepsis in newborns in our City. This research paper entitled "Identification of bacterial agents by blood culture technique in Neonates, Regional Hospital Isidro Ayora Loja City in the period February to May 2013." Its purpose is to know the ID of the most common bacteria in blood samples in neonates, using blood culture technique and determine the frequency of bacteria according to age and gender of newborns, through a prospective qualitative and quantitative, transversal whose group study consisted of 122 neonates hospitalized in the Regional Hospital Isidro Ayora Loja City. Were processed and analyzed 122 shows, which were performed to differentiate Gram stain positive and negative bacteria, and biochemical tests were finally performed for both Gram positive and catalase, coagulase and novobiocin to differentiate species of *Staphylococcus* and Gram negative: TSI, Citrate, Urea, SIM and Lisin.

The result of the study found that in 122 analysis found seven positive cases is 5.7%, of which 4.1% were *Staphylococcus epidermidis* being the most common bacteria in newborns**.**

Keywords: Blood cultures, babies, bacteria.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Título…….…… II

Autoría…….. III

Certificación…….…… IV

Agradecimiento…….…….…. V

Dedicatoria…….….. VI

Resumen…….….. VII

Summary…….….. VIII

Índice…….…. IX

I.Introducción……..…….. 10

II. Revisión de literatura…… 13

III. Metodología……. 28

IV. Resultados……... 32

V. Discusión……..…… 35

VI. Conclusiones…… 38

VII. Recomendaciones……. 39

Bibliografía……. 40

Anexos…… 43

I.INTRODUCCIÓN

Las infecciones neonatales de etiología bacteriana son una de las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial en infantes, asociada al bajo peso de nacimiento, trayendo consigo un aumento de enfermedades bacterianas intrahospitalarias y al deficiente sistema inmunitario humoral y celular del recién nacido.[1] Siendo de importancia clínica y epidemiológica, por ello el tratamiento adecuado y oportuno, tendrá un impacto importante en los índices de salud.

La infecciones bacterianas en neonatos son provocadas por factores predisponentes de la madre tales como patologías durante el embarazo (diabetes, infección urinaria), rotura prematura de membranas (RPM), parto prolongado, instrumentalización del parto, además por factores propios de un neonato prematuro, bajo peso, malformaciones renales o del sistema nervioso central (SNC).[2]

La organización Mundial de la Salud (OMS) 2002, estima en casi 5.000.000 recién nacidos (RN) muertos al año, el 93% por infecciones, 30-40% asfixias y prematurez.[3]En América Latina la incidencia de sepsis neonatal se encuentra entre 3.5 y 8.9%.[4] En Nicaragua en el 2002, la segunda causa de muerte fue la sepsis neonatal, con una tasa de mortalidad del 24.2%. La incidencia de sepsis neonatal en el Hospital Berta Calderón de Managua fue del 9% en el año 2002 3; esta infección es un síndrome clínico sistémico acompañado de bacteriemia, demostrada con el 30-40% de Hemocultivo positivo e infección clínica evidente en un 60%.[5]

El Ecuador las infecciones neonatales son un problema global registrándose en el año 2008 el 7,38% de muertes neonatales en 21 hospitales, este número se redujo al 6,93% en el 2009 y al 5,69% en el 2010. [6]Dentro de las bacterias que se encontraron en Hospitales y Maternidades del Ecuador fueron: *Serratíamarcenscens*, *klebsiellaspp*, *Pseudomonaspp*, y *Staphylococcus spp*, y *Enterobacteraerogenes*, causantes de los fallecimientos de neonatos en el Ecuador.

La Dirección Provincial de Salud de Loja, reveló la muerte de 304 niños en el Área de neonatología entre el 2006 al 2010. En el año 2010 se detectó la bacteria de género *Staphylococcus* y *Enterobacteraerogenes,* causantes del fallecimiento de 72 neonatos (promedio de 6 RN por mes) y en el año 2012 se registraron 19 recién nacidos muertos en el Área de Neonatología.[7] Debido a que no se ha realizado la desinfección del área de Neonatología desde hace dos años". Según la investigación previa, las bacterias fueron encontradas en los cuerpos, así como en los equipos, instrumentos, jabón y el agua que se utilizaba para asistir a los recién nacidos.

Por los antecedentes expuestos fue la importancia de, "Identificar los agentes bacterianos, mediante la técnica de Hemocultivo en neonatos Hospitalizados del Hospital Regional Isidro Ayora, en el periodo Febrero-Mayo del 2013",se identificaron las bacterias más frecuentes en muestras de sangre en neonatos, aplicando la técnica de Hemocultivo, determinando la frecuencia de bacterias según edad y género de los neonatos y difusión de resultados de la investigación al personal de salud que labora en el área de neonatología del Hospital Regional Isidro Ayora, mediante la entrega de un tríptico.

La metodología propuesta implica un estudio prospectivo y cualí-cuantitativo de corte transversal que acogió a 122 neonatos hospitalizados en el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja. Excluyendo a los neonatos que no presentaban petición médica. Las muestras se analizaron mediante la aplicación de la técnica de Hemocultivo. El análisis estadístico se realizó tabulando los resultados obtenidos, numéricamente y en porcentajes con los cuales se construyó tablas de frecuencia simple.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, Identificación de agentes bacterianos, mediante la técnica de hemocultivo en neonatos, del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja en el periodo Febrero – Mayo 2013. Se encontró hemocultivos que corresponde el 5,7% positivos, de

ellos el 4,1 % corresponde a la especie de *Staphylococcus epidermidis* por lo tanto, es la bacteria de mayor prevalencia en septicemia en Recién nacidos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

BACTERIAS

Son seres unicelulares que pertenecen al Reino Protista, el tamaño de las bacterias oscila entre las 0.5 y 3 µm, pudiendo llegar en algunos tipos a 10 µm. Las bacterias de interés médico tienen un tamaño entre 0.4 y 2 µm. Solo son visibles entonces, al microscopio óptico o microscopio electrónico, tienen a demás diversas formas incluyendo cocos (esferas), bacilos (barras) y espirilos (hélices). [13]

Estructura de superficie y de cubierta

 La cápsula no es constante. Es una capa gelatinomucosa de tamaño y composición variables que juega un papel importante en las bacterias patógenas. Constituye el soporte del antígeno “K”.

 Los cilios, o flagelos, no existen más que en ciertas especies. Filamentosos y de longitud variable, constituyen los órganos de locomoción. Según las especies, pueden estar implantados en uno o en los dos polos de la bacteria o en todo su entorno. Constituyen el soporte de los antígenos "H".

 La pared que poseen la mayoría de las bacterias explica la constancia de su forma. En efecto, es rígida, dúctil y elástica. Su originalidad reside en la naturaleza química del compuesto macromolecular que le confiere su rigidez. Este compuesto, un mucopéptido, está formado por cadenas de acetilglucosamina, ácido murámico y de cadenas cortas de aminoácidos.En las bacterias Gram negativas forman el antígeno “O”.

 La membrana citoplasmática, situada debajo de la pared, tiene permeabilidad selectiva frente a las sustancias que entran y salen de la bacteria. Es soporte de numerosas enzimas, en particular las respiratorias.

Estructuras internas

 El núcleo lleva el material genético de la bacteria; está formado por un único filamento de ácido desoxirribonucleico (ADN) apelotonado y que mide cerca de 1 mm de longitud (1000 veces el tamaño de la bacteria).

 Los ribosomas son elementos granulosos que se hallan contenidos en el citoplasma bacteriano; esencialmente compuestos por ácido ribonucleico, desempeñan un papel principal en la síntesis proteica.

 El citoplasma, por último, contiene inclusiones de reserva.[13]

Metabolismo

El metabolismo bacteriano se clasifica en base a dos criterios importantes:

Según la fuente de carbono, las bacterias se pueden clasificar como:

 Heterótrofas, cuando usan compuestos orgánicos.

 Autótrofas, cuando el carbono celular se obtiene mediante la fijación del dióxido de carbono. Las bacterias autótrofas típicas son las cianobacterias fotosintéticas, las bacterias verdes del azufre y algunas bacterias púrpura. Pero hay también muchas otras especies quimiolitotrofas, por ejemplo, las bacterias nitrificantes y oxidantes del azufre.

Según la fuente de energía, las bacterias pueden ser:

 Fotótrofas, cuando emplean la luz a través de la fotosíntesis.

 Quimiotrofas, cuando obtienen energía a partir de sustancias químicas que son oxidadas principalmente a expensas del oxígeno o de otros receptores de electrones alternativos (respiración aerobia/anaerobia). [14]

La división celular bacteriana

La síntesis de la pared, el crecimiento bacteriano y la duplicación del ADN regulan la división celular. La bacteria da lugar a dos células hijas. La división empieza en el centro de la bacteria por una invaginación de la membrana citoplasmática que da origen a la formación de un septo o tabique transversal.

La separación de las dos células va acompañada de la segregación en cada una de ellas de uno de los dos genomas que proviene de la duplicación del ADN materno.[14]

Clasificación bacteriana

Las bacterias han sido divididas y clasificadas en varios grupos de acuerdo a su morfología, localización, metabolismo, condiciones de crecimiento, etc.
El método de clasificación bacteriano para fines prácticos y de investigación, ampliamente utilizado en los laboratorios de diagnóstico médico está basadoen la capacidad de las bacterias para retener los colorantes en su pared celular de acuerdo su conformación. De esta manera se distinguen dos grandes grupos bacterianos: las bacterias Gram (+), y bacterias Gram (-)

- Las bacterias Gram (+) son aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram.

- Las bacterias Gram (-) son aquellas bacterias que se tiñen de un color rosado tenue: de ahí el nombre de "Gram-negativas"[12]

De acuerdo a su morfología

Se obtiene una valiosa información al observar al microscopio la forma, tamaño, inclusiones intracelulares, apéndices celulares y la presencia o ausencia de estructuras especializadas como: esporas flagelos.[14]

Esféricas.- son bacterias de tamaño variable y algunas veces se encuentran asociadas. Provienen de la palabra griega que significa fresa o grano que actualmente denominadas como:

- Cocos
- Diplococos en pares
- Estreptococos en cadena
- Estafilococos acúmulos irregulares
- Tétradas grupo de cuatro cocos

Cilíndricas.- algunas formas cilíndricas, alargadas que parecen cigarrillos; provienen de la palabra griega que significa bastón.

- Sarcina acumulo de ocho cocos
- Bacilos bastoncillos rectos, en forma de salchicha y tamaño diverso.
- Cocobacilos son muy cortos y tienen la forma casi de cocos algo alargados a la vez.

Helicoidales.-son curvas, espirales, onduladas y hay de dos tipos: rígidos y flexibles.

- Vibrio (rígido) tienen forma de coma, con una sola vuelta.
- Spirilos (rígido) forma de espiral y se enrollan en varias vueltas.
- Espiroquetas (flexibles) curvas o espirales flexibles largas, a veces con un flagelo. [14]

INFECCIÓN HOSPITALARIA O INFECCIÓN NOSOCOMIAL

La infección hospitalaria se define como cualquier infección adquirida mientras se está en el hospital. La mayor parte de estas infecciones se manifiestan cuando el paciente está en el hospital, pero algunas (hasta el 25% de las infecciones de heridas postoperatorias) no se manifiestan hasta que el paciente es dado de alta. Pero se atribuyen a la utilización de antibióticos de amplio espectro, al uso generalizado de catéteres intravasculares, a la mayor supervivencia de enfermos graves, a la aparición de resistencia a los antimicrobianos en microorganismos como *Staphylococcus aureus*o *Enterococcus*que pueden causar brotes de infección hospitalaria, a la mayor agresividad de la cirugía y a la utilización de maniobras terapéuticas invasivas. Por otra parte, el aumento de pacientes con neoplasias o infección por VIH, gravemente inmunodeprimidos, ha provocado la aparición cada vez más frecuente de bacteriemias causadas por agentes que en el pasado eran causa muy rara de infección.[15]

La infección hospitalaria puede adquirirse a partir de:

- Una fuente exógena (otro paciente, infección cruzada o del ambiente). [16]
- Una fuente endógena (otra zona del mismo paciente, autoinfección)

Una infección que se esté incubando cuando el paciente está ingresado en el hospital no es infección hospitalaria. Sin embargo, las infecciones adquiridas en la comunidad que el paciente lleva al hospital pueden convertirse en infecciones hospitalarias para otros pacientes y para el personal del hospital.

Tres factores principales determinan la probabilidad de que un paciente adquiera una infección nosocomial:

- La susceptibilidad del paciente a la infección.
- La virulencia del microorganismo infectante.
- El tipo de exposición del paciente al microorganismo infectante.[15]

INFECCIONES DEL TORRENTE CIRCULATORIO

La tasa global de infecciones Nosocomiales del torrente circulatorio se incrementa por diversos factores de riesgo que predisponen a los pacientes para adquirir una infección nosocomial de la circulación sanguínea tales como:

1) Edad <_1 año o >_60 años
2) Desnutrición
3) Quimioterapia inmunosupresora
4) Pérdida de integridad cutánea (quemaduras o úlceras por decúbito)
5) Enfermedad subyacente severa.
6) Dispositivos permanentes (catéteres)
7) Internación en unidad de cuidados intensivos
8) Internación prolongada en el hospital.[15]

BACTERIEMIA

La bacteriemia es la presencia de bacterias en la sangre, detectadas mediante hemocultivo. El termino septicemia también define la presencia de bacterias en la sangre, pero conlleva un sentido de urgencia en el tratamiento del paciente. La bacteriemia se puede definir como transitoria (único episodio con una duración inferior a 20 min). La bacteriemia intermitente implica la manipulación de una zona extravascular, como un absceso por *Staphylococcus aureus*, en la

que las bacterias se introducen en los vasos linfáticos en diferentes momentos y, desde este punto, alcanzan la sangre.[15]

La bacteriemia, situación en la cual se encuentran bacterias circulando en la sangre, puede ser indicativo de la presencia de un foco infeccioso, tal como infección intravascular, neumonía o un absceso de hígado, o puede representar la liberación transitoria de bacterias en el torrente sanguíneo. La septicemia o sepsis es indicativo de un proceso en el que las bacterias se multiplican a una tasa que excede la capacidad del sistema retículo endotelial de removerlas, y cuya presencia en la circulación está asociada a daño al hospedero.

Las bacterias entran al torrente sanguíneo desde focos extravasculares, vía vasos linfáticos. La bacteriemia puede ser transitoria, intermitente o continua, reflejando los mecanismos de entrada a la circulación. La bacteriemia transitoria puede ocurrir cuando los microorganismos, a menudo de la flora normal, son introducidos a la sangre como consecuencia de procedimientos relativamente simples (cepillado de dientes, abrasiones gingivales, manipulación). La bacteriemia intermitente ocurre por liberación periódica de sitios de infección, tales como abscesos extravasculares, cavidades empiémicas, o infecciones difusas (celulitis, peritonitis, artritis séptica). [15]

La bacteriemia continua usualmente se produce en casos donde los organismos tienen acceso directo al torrente circulatorio, tales como endocarditis, fistulas arteriovenosas, catéteres intraarteriales o cánulas permanentes. Los sitios de entrada más comunes para la septicemia son tracto genitourinario (25%), tracto respiratorio (20%) y abscesos (10%), mientras que en un 35%de los casos no se conoce con exactitud la fuente de la bacteriemia. Los bacilos Gram -negativos, en particular los miembros de la familia Enterobacteriaceae*(E. coli, Klebsiella, Enterobacter*y *Serratia)* y *Pseudomonasaeruginosa*están presentes en más del 50% de las bacteriemias. Estos microorganismos son capaces de colonizar rápida y eficazmente la piel y tracto gastrointestinal de pacientes hospitalizados, lo cual, sumado a su resistencia relativamente alta a los antimicrobianos, se convierten en un factor de riesgo importante.[15]

Varios mecanismos juegan un papel en la remoción de microorganismos de la circulación. En hospederos sanos e inmunocompetentes, un influjo súbito de bacterias usualmente es aclarado de la sangre en 30 a 45minutos. El hígado y el bazo actúan como órganos de eliminación primarios, y los neutrófilos intravasculares como filtros secundarios. Las bacterias encapsuladas son más difíciles de eliminar, pero la presencia de anticuerpos específicos promueve el aclaramiento. Pacientes con enfermedades debilitantes o inmunodeficientes están a un alto riesgo porque las bacterias pueden permanecer por horas antes de ser eliminadas.

La sepsis bacteriana constituye una de las más serias enfermedades infecciosas. No es una enfermedad de reporte obligatorio, y es posible que muchas muertes debidas a sepsis sean atribuidas a enfermedades subyacentes. Los signos y síntomas pueden incluir fiebre o hipotermia, hiperventilación y alcalosis respiratoria subsecuente, lesiones en piel y alteraciones en el estado mental. Las manifestaciones más serias incluyen hipotensión o choque, coagulación intravascular diseminada y falla orgánica múltiple.[15]

Características de las bacteriemias

La incidencia de la bacteriemia depende de la población estudiada y oscila entre 5 y 30 casos por cada 1000 pacientes hospitalizados. Se presenta a cualquier edad y están especialmente predispuestos a padecerla los pacientes con graves enfermedades de base y los sometidos a maniobras que causan alteraciones de los mecanismos generales y locales de defensa frente a la infección. [19]

La bacteriemia puede ser una complicación de infecciones localizadas como infección urinaria, infecciones respiratorias, etc., puede deberse a la irrupción directa de los microorganismos en el torrente cardiovascular como en el caso de pacientes adictos a drogas, portadores de catéteres intravasculares y sometidos a cirugía cardíaca, o bien la puerta de entrada puede ser inaparente.

Las manifestaciones clínicas de las bacteriemias son muy variadas y van desde un cuadro febril, sin ninguna otra manifestación clínica, hasta el shock séptico con fracaso multiorgánico.[15]

Etiología de la bacteriemia

La distribución de los agentes causales de bacteriemia ha variado a lo largo de los años. En la actualidad los cocos Gram positivos superan en frecuencia a los bacilos gramnegativos probablemente condicionados por la amplia utilización de antibióticos de amplio espectro y el uso generalizado de catéteres intravasculares. Se aíslan con mayor frecuencia cocos Gram positivos

(*Staphylococcus epidermidis,* y otros estafilococo coagulasa negativos, *Staphylococcus aureus, Enterococcusfaecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcusagalactiae),* bacilos Gram negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Pseudomonasaeruginosa*) y otros (*Brucella*spp., *Neisseria*spp., *Acinetobacter*spp., *Bacteroides*spp., y *Candida* spp.) [12]

DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO

La sangre de los individuos sanos es estéril. La presencia de bacterias en sangre es definida como bacteriemia y se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos. Septicemia o sepsis son expresiones que se emplean para denominar el síndrome clínico con el que se manifiestan las bacteriemias. La invasión del torrente sanguíneo se produce desde un foco primario, vía sistema linfático al sistema vascular o entrada directa por infecciones intravasculares o a través de dispositivos como catéteres o agujas. El aislamiento de un microorganismo en sangre establece el diagnóstico etiológico de la bacteriemia y permite elegir el tratamiento más eficaz.[16]

Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y componente que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de microorganismo.[16]

Constituyentes habituales de los medios de cultivo.

1. Fuente de carbono y sales. En muchos casos, la glucosa, la lactosa u otras dextrosas se emplean como fuente de carbono.

2. Agar. El agar se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo.

3. Extractos. Para su preparación, ciertos órganos o tejidos animales o vegetales son extraídos con agua y calor, y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo.

4. Peptonas. Son mezclas complejas de compuestos orgánicos nitrogenados y sales minerales que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales.

5. Fluidos corporales. Sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo son frecuentemente añadidos a los medios empleados para el cultivo de algunos patógenos.

6. Sistemas amortiguadores (soluciones tamponadas). Algunos componentes son incorporados al medio de cultivo para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano.

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

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

9. Agentes selectivos. La adición de determinadas sustancias al medio de cultivo puede convertido en selectivo. Por ejemplo, cristal violeta, sales biliares, acida sódica, telurito potásico, antibióticos.[16]

Tipos de medios de cultivo

1. **Medios generales.** Permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismo.

2. **Medios de enriquecimiento.** Favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo, sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento del resto.

3. **Medios selectivos.** Permiten el crecimiento de un tipo microbiano determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás

4. **Medios diferenciales.** Son aquellos en los que se ponen de relieve propiedades que posee un determinado tipo de microorganismo. [16]

Medios artificiales para la bacteriología de rutina.

Los diversos medios líquidos y sólidos que tienen funciones de enriquecimiento, selectivo, diferencial o ambos, y que se utilizan con frecuencia para la bacteriología de rutina.

Agar con sangre de carnero. La mayor parte de las muestras para bacteriología se inoculan en placas de agar con sangre de carnero debido a que este medio favorece el desarrollo de todas las bacterias de importancia clínica, excepto las más exigentes. El medio consiste en una base que contiene una fuente de proteínas, digerido proteico de soja (que contiene una pequeña cantidad natural de hidrato de carbono natural), cloruro de sodio, agar y sangre de carnero al 5%. Cultivos de microorganismo con requerimientos especiales de cultivo, determinación de reacciones hemolíticas. [16]

Pruebas bioquímicas de identificación bacteriana.

Bacilos Gram negativos:

TSI: El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa

en un único medio. También permite la identificación de la producción de SH2.[17]

DESCARBOXILACION LISINA: Se realiza en tubo (caldo o sólido) y se emplea para la identificación de enterobacterias, cuando estas se proceden a su cultivo fermentan la glucosa y el medio del pH disminuirá. A partir de aquí, si son capaces de realizar la descarboxilaciòn de L-lisina por la producción de la descarboxilasa el pH volverá a aumentar y en presencia de un indicador como púrpura de bromocresol, los tubos inoculados positivos tomaran un color púrpura o violeta mientras que los negativos serán de color amarillo.[17]

SIM El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas, y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa. El indol producido se combina con el aldehido del reactivo de Kovac´s o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2.[18]

UREA: En el medio de cultivo, la tripteína y la glucosa, aportan los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el rojo de fenol es el indicador de pH. Algunas bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio haciendo virar el rojo de fenol del amarillo al rojo. En este medio, la fermentación de la glucosa activa la enzima ureasa, acelerando la velocidad del metabolismo en aquellos organismos que hidrolizan lentamente la urea, como especies de Enterobacter o Klebsiella.[18]

Prueba de Citrato: La utilización de citrato como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de enterobacterias. La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta en un medio de cultivo con citrato

como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6.[18]

Cocos Gram positivos:

Catalasa: El Objetivo es buscar la presencia de la enzima catalasa. El peróxido de hidrógeno se produce al utilizar la bacteria el azúcar por vía oxidativa. Al ser éste un compuesto muy oxidante las bacterias la eliminan mediante la producción de la enzima catalasa ($H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$), es usada para diferenciar entre los géneros *Staphylococcus* los cuales presentan una reacción positiva (producción de burbujas en el momento en que entra en contacto la colonia con el peróxido de hidrógeno.)[10]

Coagulasa: La coagulasa es un enzima capaz de desnaturalizar la bibrina del plasma. El objetivo es buscar en factor de aglutinación de los microorganismos cuando estos se mezclan con el plasma. Esta prueba se utiliza para diferenciar microorganismos del genero *Staphylococcus aureus*(coagulasa positivo) de otros *Staphylococcus* que presentan reacción negativa

La Novobiocina: La novobiocina es activa frente el *Staphylococcus epidermidis,* y puede usarse para diferenciarlo de los otros coagulasa negativos, como el *Staphylococcus saprophyticus,* que son resistentes a la novobiocina. Antibiótico de acción bacteriostática activo sobre todo frente a gérmenes gram-positivos. Dada la facilidad con la que se desarrollan resistencias a este antibiótico, se suele administrar asociado a otro antibacteriano.[26]

Hemocultivo

El estudio del hemocultivo tiene importancia en consideración a la posible presencia de una bacteriemia o de una septicemia que una vez comprobadas permiten establecer la realización de algunas pruebas de laboratorio que ayudan al diagnóstico de las enfermedades infecciosas.[19]

Comúnmente la circulación de la sangre humana es estéril, pero en el curso de algunas enfermedades infecciosas, la sangre con el tiempo puede ser invadido por microorganismos. Una invasión transitoria de la circulación sanguínea se denomina bacteriemia, mientras que la situación en la que la adición del microorganismo invasor se multiplica en el torrente sanguíneo se llama septicemia. [25]

Importancia clínica.

La sangre es especialmente importante en los casos más graves, cuando hay fiebre persistente, signos hematológicos y clínico de la infección, sin embargo, con los resultados de pruebas microbiológicos tradicionales no concluyentes. Se sabe que en la sangre una bacteria puede llegar a cualquier parte del cuerpo, produciendo lo que se denomina los focos de infección, la aparición de lo que agrava el cuadro clínico y es a menudo la causa de muchas muertes.[25]

Recomendaciones en cuanto al número de hemocultivos apropiados para cada situación clínica.

- En sepsis aguda, meningitis, osteomielitis, artritis, neumonía bacteriana aguda no tratada y pielonefritis conviene extraer sangre para 2 sets de hemocultivos con un intervalo de 30 minutos.

- En la endocarditis se recomienda extraer sangre para 3 sets de hemocultivos en un periodo de 24 horas.

- En situaciones de fiebre de origen desconocido (fiebre tifoidea, brucelosis, absceso oculto, etc.) se aconseja extraer sangre para inicialmente 2 hemocultivos, y tras 24-36 horas, si los dos primeros son negativos, extraer sangre para 2 hemocultivos antes de la aguja febril; los hallazgos no aumentan al cursar más de 4 hemocultivos.

 En caso de pacientes con sospecha de infección de dispositivos protésicos o de CVC en que los microorganismos causantes podrían ser confundidos con contaminantes o, a la inversa, se recomienda extraer sangre para 3 o más sets de hemocultivos.

 Un solo set de hemocultivos podría ser apropiado en los casos en que se desea valorar el "aclaramiento" de la bacteriemia (por ejemplo, en caso de *S. aureus*) en respuesta a la antibioterapia, en los pacientes de edad avanzada y/o con pluripatología crónica atendidos domiciliariamente, en los enfermos que siguen control en hospitales de día por diferentes enfermedades, y en los pacientes pediátricos.[15]

MÉTODOS

Los métodos para el estudio microbiológico de los hemocultivos pueden ser cuantitativos, semicuantitativos y cualitativos.

 Los cuantitativos permiten establecer el número de bacterias por ml. de sangre cultivada. La técnica que se sigue es la descrita por Schotmüeller y consiste en preparar placas de agar sangre mediante la mezcla de una muestra de sangre obtenida del paciente y agar nutriente. Este procedimiento es engorroso, necesita personal experto en la preparación del medio, que pueda realizarlo en el momento en que se sospechó la bacteriemia y se extraiga la sangre y no es válido para el aislamiento de bacterias anaerobias. Todo ello hace imposible el empleo rutinario de esta técnica en los laboratorios que reciben un elevado número de hemocultivos, por lo que se reserva al estudio de casos especiales en los que sea importante determinar el número de bacterias por ml. de sangre, como en las sepsis asociadas a catéter.

 Semicuantitativos se sigue un procedimiento de lisis centrifugación. Para ello, se realiza la extracción de sangre en un tubo "sistema vacutainer" con saponinas que rompen las células sanguíneas. La sangre se centrifuga y el sedimento se siembra directamente en las placas de cultivo. Este método permite una valoración semicuantitativa por recuento de las colonias aisladas, consigue a menudo una identificación más rápida de los microorganismos

causales y facilita la búsqueda de bacterias como micobacterias o *Legionella*al permitir seleccionar los medios de cultivo más adecuados para aislar dichos microorganismos. Tiene el inconveniente de que la manipulación de la muestra aumenta la posibilidad de contaminación y requiere un procesamiento individualizado con la consiguiente necesidad de personal de laboratorio.

 Cualitativos se realizan cultivando la sangre en frascos con medio líquido o bifásico y son los utilizados de forma rutinaria en la mayoría de los Laboratorios de Microbiología. En éstos el medio de cultivo debe examinarse diariamente para detectar lo antes posible los signos de crecimiento bacteriano. En el procedimiento convencional este examen diario se realiza por inspección visual de los frascos. Existen otros procedimientos de lectura basados en la producción de $C0^2$ que facilitan aparatos automáticos. Estos se han ido incorporando a los Laboratorios de Microbiología porque detectan con rapidez el crecimiento bacteriano y facilitan el trabajo del personal de laboratorio.[20]

III. METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO

El presente trabajo investigativo es un estudio de tipo prospectivo y cualí-cuantitativo de corte transversal.

AREA DE ESTUDIO

Este trabajo se realizó en el Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, durante el periodo febrero a mayo del 2013

UNIVERSO

Estuvo conformado por todos los neonatos hospitalizados con pedido de hemocultivos en el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja en el periodo mencionado

MUESTRA

Se analizó 122 muestras de sangre en neonatos que estuvieron hospitalizados en el Hospital Isidro Ayora.

CRITERIOS DE INCLUSION

 Neonatos hospitalizados en el H.R.I.A. con antecedentes de presentar signos y síntomas de septicemia.

 Neonatos que requieran de un hemocultivo, con su respectiva petición medica

CRITERIOS DE EXCLUSION

 Neonatos hospitalizados en el H.R.I.A. que no presenten sintomatología de un proceso infeccioso.

TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS

FASE PREANALITICA.-

En esta fase contempla la recolección de la muestra de sangre para hemocultivos, las encargadas son las enfermeras del Hospital Regional Isidro

Ayora bajo la autorización de los médicos del área de neonatología. Los médicos son los que dictaminan la orden de enviar un hemocultivo por cada neonato, al Laboratorio Clínico del Hospital Regional Isidro Ayora.

1. FASE ANALÍTICA

Esta fase contempla los diversos pasos del proceso del laboratorio clínico en los que transcurren los procedimientos de observación, identificación de la presencia de crecimiento y multiplicación de microorganismos.

1.1. PROCESAMIENTO DE LOS HEMOCULTIVOS

INCUBACIÓN- PRIMER DIA

Una vez inoculados los frascos se incuban a 35-37º C, durante diez días. Con los frascos se inspeccionan diariamente de forma manual con el fin de detectar signos que indiquen la presencia del crecimiento

- Turbidez,
- Hemólisis,
- Gas o
- Presencia de colonias.

Hay microorganismos que crecen sin presentar turbidez al medio y por otra parte con el tiempo la sangre se hemolisa espontáneamente y el medio se enturbia aún sin crecimiento bacteriano , por ello se ha recomendado efectuar un subcultivo desde los frascos que sean visualmente negativos transcurridas las primeras 48 horas y otro el último día antes de desecharlo como negativo.

SEGUNDO DÍA

Se realiza la observación del frasco de hemocultivo en busca de alguna señal que indique crecimiento; y en caso de no verificar ninguna alteración en el medio se registra con fecha y hora; que no existe crecimiento bacteriano en 24 horas de incubación en el sistema Datalab.

TERCER DÍA

A las 48 horas de incubación a 37º C se hace visible macroscópicamente una ligera turbidez evidencia de la existencia de microorganismos. En condiciones de asepsia y con la ayuda de una jeringuilla estéril, se obtiene una pequeña cantidad de caldo y se realiza la siembra en agar sangre.

 CUARTO DÍA.

Verificar si el Hemocultivo es positivo o negativo luego se subcultiva en:

 Agar Sangre

Dejándolo caer 2 gotas de sangre inoculada de los Hemocultivos de las cuales se hace la siembra por estricción con asa de 1 ul. Incubar 48-72 horas a 370C

La lectura e interpretación del cultivo bacteriano se basa en el estudio de las características macroscópicas y microscópicas del cultivo observado a las 24 horas de incubación a 37ºC.

Luego se realiza un frotis de las colonias, para colorear con las soluciones para Gram y se procede a la observación microscópica.

Si la tinción de Gram son cocos Gram positivos se realiza los siguientes parámetros de identificación: Catalasa, Coagulasa, Novobiocina: Si hay la formación de un Halo mayor a 14mm. es*Staphylococcus epidermidis.* Si es menor a 14mm. *Staphylococcus saprophyticus.*

Tinción Gram Bacilos Gram negativos: Citrato: Crecimiento a lo largo de la estría y con un cambio de color de verde a azul; SIM. Movilidad positivo e indol negativo y gas sulfúrico negativo; Urea agar base: Se mantiene el color del medio amarillo; Lisina: Se mantiene el color del medio violeta: TSI: Pico de flauta ácido/fondo ácido

El microorganismo aislado fue *Enterobacteraerogenes*

2. POST ANALITICA

Todos los resultados obtenidos en el análisis de hemocultivos son ingresados a un Sistema llamado DATALAB que posee el Laboratorio Clínico del Hospital Regional Isidro Ayora

ANALISIS DE DATOS

Se creó una base de datos en Excel, los resultados obtenidos se tabularon en forma numérica y en porcentual con los cuales se construyó tablas de frecuencia simple y se analizaron e interpretaron los resultados obtenidos

IV. RESULTADOS

TABLA Nº 1

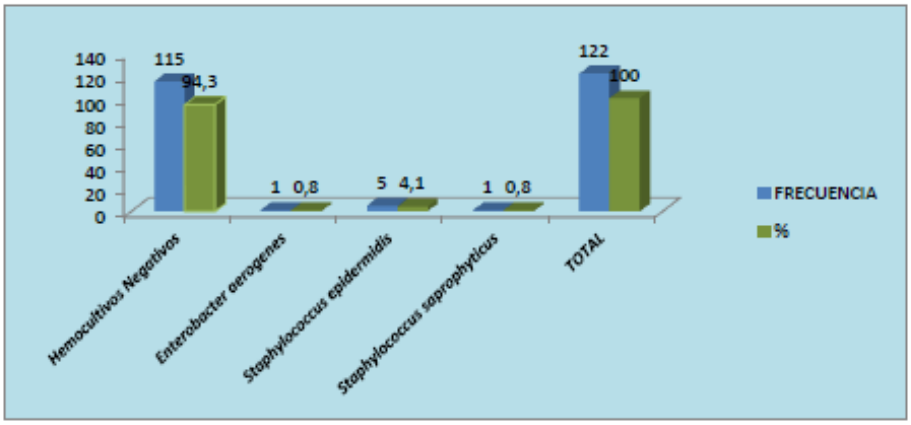
BACTERIAS FRECUENTES EN HEMOCULTIVOS DE NEONATOS FEBRERO A MAYO DEL 2013

BACTERIAS	FRECUENCIA	%
Hemocultivos Negativos	115	94,3
Enterobacter aerogenes	1	0,8
Staphylococcus epidermidis	5	4,1
Staphylococcus saprophyticus	1	0,8
TOTAL	**122**	**100**

Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

GRAFICO Nº1

BACTERIAS FRECUENTES EN HEMOCULTIVOS DE NEONATOS FEBRERO A MAYO DEL 2013



Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

Los hemocultivos procedentes del área de neonatología el *Staphylococcus epidermidis* fue aislado con un 4,1 % que corresponde a 5 casos.

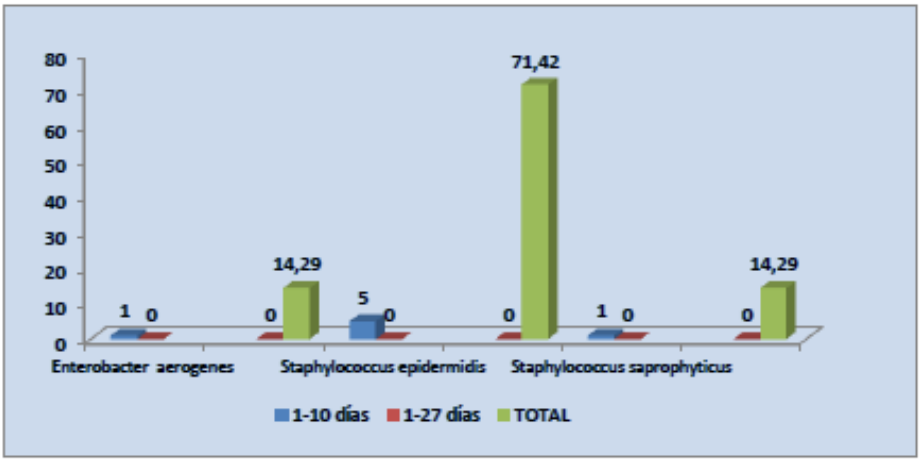
TABLA Nº 2

BACTERIAS AISLADAS EN HEMOCULTIVOS SEGÚN EN EDAD EN NEONATOS HOSPITALIZADOS DEL H.R.I.A

	Enterobacter aerogenes		*Staphylococcus epidermidis*		*Staphylococcus* Saprophyticus	
	FRECUENCIA	**%**	**FRECUENCIA**	**%**	**FRECUENCIA**	**%**
1-10 días	1	14,29	5	71,42	1	14,29
1-27 días	0	0	0	0	0	0
TOTAL	**1**	**14,29**	**5**	**71,42**	**1**	**14,29**

Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

GRAFICO Nº 2
BACTERIAS AISLADAS EN HEMOCULTIVOS SEGÚN EN EDAD EN NEONATOS HOSPITALIZADOS DEL H.R.I.A



Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

El *Staphylococcus epidermidis* fue aislado en hemocultivos con un 71,42% que corresponde a 5 casos en un rango de 1 a 10 días de nacido.

TABLA Nº 3

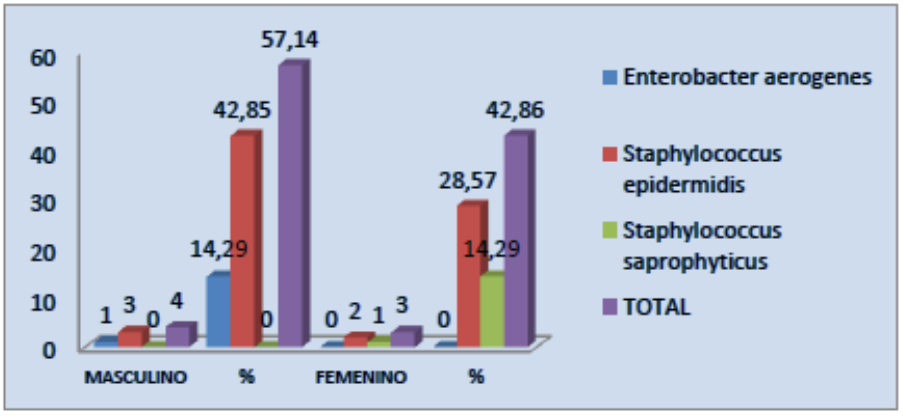
BACTERIAS AISLADAS EN HEMOCULTIVOS SEGÚN EL GÉNERO EN NEONATOS HOSPITALIZADOS DEL H.R.I.A

BACTERIAS	GENERO			
	MASCULINO	%	FEMENINO	%
Enterobacter aerogenes	1	14,29	0	0
Staphylococcus epidermidis	3	42,85	2	28,57
Staphylococcus saprophyticus	0	0	1	14,29
TOTAL	**4**	**57,14**	**3**	**42,86**

Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

GRAFICO Nº 3

BACTERIAS AISLADAS EN HEMOCULTIVOS SEGÚN EL GÉNERO EN NEONATOS HOSPITALIZADOS DEL H.R.I.A



Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

El *Staphylococcus epidermidis* fue aislado en hemocultivo con un 42,85% en masculino y 28,57 en femenino.

V. DISCUSIÓN

Las infecciones son un problema relevante de salud; siendo una de las causas de morbi-mortalidad en neonatos, asociada al bajo peso de nacimiento, trayendo consigo un aumento de enfermedades bacterianas intrahospitalarias y al deficiente sistema inmunitario humoral y celular del recién nacido.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, Identificación de agentes bacterianos, mediante la técnica de hemocultivo en Neonatos, del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja durante el mes de Febrero a Mayo del 2013. Se pudo determinar estadísticamente que de un total de 122 hemocultivos, siete de ellos, que representan el 5,7% corresponden a resultados positivos de agentes bacterianos, de ellos el 4,1 % corresponde a la especie de *Staphylococcus epidermidis* por lo tanto, es la bacteria de mayor frecuencia en casos de septicemia en recién nacidos.

De los resultados indicados en el párrafo anterior, obtenidos mediante el trabajo de campo de la presente tesis, pueden ser contrastados con otros estudios ya efectuados, tal es el estudio realizado en Hospital Infantil de México Federico Gómez, de Enero a Diciembre 2004, en donde se tomaron 849 hemocultivos, con crecimiento en 195; el agente más común fue *Staphylococcus epidermidis* con 48 (24.6%), *Candida albicans* 26 (13.3%), *Klebsiella pneumoniae* 22 (11.2%), *Staphylococcus coagulasa negativo* (5.6%), *Staphylococcus haemolyticus 11* (5.6%) y otros 11 (39.7%), por lo que la presencia del agente bacteriano *Staphylococcus epidermidis*, es mayoritaria en los hemocultivos que ha sido tomados como muestra de investigación, y por ende su influencia en la tasa de mortalidad de neonatos en el mundo.[21]

A más de lo indicado, existen otros estudios realizados en el Hospital de la Mujer de la ciudad de la Paz – Bolivia en el 2002; en donde se realizaron hemocultivos a neonatos en la cual se encontraron a nivel subclínico, el género *Staphylococcus epidermidis*, con el(29.26%) que fue el más aislado, seguido de *acinetobacterspp*. (17.09%), *Staphylococcus aureus*(9.75%), *klebsiellaoxytoca*(7.32), *candidaspp*. (7.32%), *Enterococcusspp.* (7.32), *Pseudomonasspp*. (4.87), *Klebsiella pneumoniae* (4.87%), *Escherichia coli*

(2.45) y otros (9.75%), por ende una vez más la presencia del Staphylococcus epidermidis es preponderante en los procesos infecciosos en recién nacidos.[22]

En el Servicio de Neonatología del Instituto Especializado de Salud del Niño en el año 2002 se realizó un estudio en 134 en las cuales el 63% corresponden a hemocultivos positivos donde los gérmenes más frecuentes fueron las bacterias Gram positivos con 52,6%, y los Gram negativos 40,6%. Las especies de Candida sumaron 6,8%. Cuyo germen de mayor frecuencia fue *Staphylococcus epidermidis*, con el 38%, un porcentaje preocupante, pues dentro de la etiología de los procesos infecciosos está este agente bacteriano, que por su carácter oportunista afecta a los neonatos por la inmunodepresión presente en casos de nacimientos prematuros o con deficiencias congénitas.[23]

A nivel nacional entre el año 2008 y 2010 en varios hospitales y maternidades se encontraron las siguientes especies bacterianas: *Serratiamarcenscens*, *klebsiellaspp*, *Pseudomonaspp*. y*Staphylococcus* y *Enterobacteraerogenes*, principales causantes de los fallecimiento de neonatos en el Ecuador,6 cuyas secuelas más graves a parte de la muerte son los daños de tipo neurológico. Existen una serie de factores de riesgo, tanto maternos como neonatales, que ponen al neonato en predisposición de desarrollar sepsis neonatal temprana, y cuya determinación ponen en alerta al médico, de manera que se pueda iniciar oportunamente e iniciar el tratamiento antibiótico eficaz.

En la ciudad de Loja la Dirección Provincial de Salud de Loja, reveló la muerte de 304 niños en el área de neonatología entre el 2006 al 2010. En el año 2010 se detectó la bacteria de género *Staphylococcus* y *Enterobacteraerogenes*, causantes del fallecimiento de 72 neonatos (promedio de 6 Rn por mes) y en el año 2012 se registraron 19 recién nacidos muertos en el área de neonatología.[24]

Comparando con los datos obtenidos en años anteriores en esta misma institución de salud pública, la prevalencia de *Staphylococcus* y *Enterobacteraerogenes,* son los agentes causantes de mayor frecuencia de septicemias en neonatos; aunque con la presente investigación existe una

ligera variación, esto es, teniendo en cuenta que en el 2013 los resultados obtenidos son del periodo Febrero a Mayo a diferencia de los años anteriores que se realizaron en años completos, por ende los resultados son relativos a los estudios anteriores, principalmente por el tiempo en que se estudió y analizó los hemocultivos, pero cabe recalcar que existe un factor predominante y constante en todos los resultados, que es la presencia del agente bacteriano *Staphylococcus epidermidis.*

Por lo indicado se ha verificado el objetivo general referente a identificar los agentes bacterianos, mediante la técnica de Hemocultivo en neonatos Hospitalizados del Hospital Regional Isidro Ayora, en el periodo Febrero-Mayo del 2013, con la finalidad de contribuir al diagnóstico y tratamiento de las infecciones neonatales, pues del trabajo de campo se ha determinado la presencia predominante del agente bacteriano *Staphylococcus epidermidis*.

De igual manera se verifica el objetivo específico referente a determinar las bacterias más frecuentes en muestras de sangre en Neonatos, aplicando la técnica de Hemocultivo, determinando que son cuatro las especies entradas, que en orden de mayor a menor porcentaje son las siguientes: *Staphylococcus epidermidis* (4,1%), seguido en menor proporción de los agentes bacterianos *Enterobacteraerogenes*y *Staphylococcus saprophyticus*en un porcentaje de (0.8%) cada uno.

El segundo objetivo específico planteado fue determinar la frecuencia de bacterias según edad y género de los neonatos, determinando que los casos de septicemia bacteriana se dan en mayor frecuencia por el agente bacteriano *Staphylococcus Epidermidis*, durante los primeros diez días de nacido, produciéndose en tales casos septicemia temprana. Es de transcendental importancia indicar que en el periodo de once a veintisiete días de nacidos, no se presentaron casos de infección. En cuanto a la frecuencia de bacterias en neonatos según el género, se determinó que existe predominio del agente bacteriano *Staphylococcus Epidermidis* causante de septicemia temprana en recién nacidos de género masculino.

VI. CONCLUSIONES

Finalizado el presente estudio investigativo, he llegado a las siguientes conclusiones:

1. Se estableció la presencia predominante y como causa principal de septicemia en neonatos el agente bacteriano *Staphylococcus epidermidis 4,1%* y en proporciones relativamente inferiores de *Enterobacteraerogenes*y *Staphylococcus saprophyticus 0,8%.*

2. Se determinó que la sepsis por el agente bacteriano *Staphylococcus epidermidis*, se produce entre los diez primeros días de nacidos, indicando tales resultados que se trata de una sepsis temprana, principalmente porque a partir de los once a veintisiete días de nacidos no se presentan ya casos de septicemia en neonatos.

3. El género masculino en neonatos, es donde se producen la mayoría de casos de septicemia por el agente bacteriano *Staphylococcus Epidermidis*.

VII. RECOMENDACIONES

Del desarrollo del presente trabajo investigativo puedo recomendar lo siguiente:

1. Que al momento de efectuar el procedimiento de hemocultivo se empleen materiales e instrumentos estériles con el fin de evitar contaminación externa de la muestra, y por ende evitar en lo principal datos errados o falsos positivos.

2. Que el personal que efectúe los hemocultivos acate las medidas de bioseguridad para evitar el riesgo de contaminación personal y propagación del foco infeccioso a otros lugares al exterior del centro hospitalario.

3. Que se siga un protocolo adecuado en el estudio y análisis de hemocultivos, con el propósito de que el resultado del hemocultivo permita al médico tratante efectuar un diagnóstico preciso de la causa de la sepsis en neonatos y se inicie con el tratamiento oportuno y eficaz.

4. Se debe mejorar las condiciones de salubridad y esterilización Hospitales a nivel nacional, especialmente en las áreas de neonatología con el fin de evitar brotes de infecciones por agentes bacterianos, especialmente por *Staphylococcus Epidermidis*.

5. Que se efectúen en los centros hospitalarios, análisis periódicos de cultivos de ambiente, para detectar si hay o no presencia de bacterias de alto riesgo de infección en el área de neonatología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Oto, M. infecciones bacterianas neonatales. Revista Chilena de Pediatría 2004

2. Beta, P. Infección bacteriana en el recién nacido de bajo peso: colonización, personal y ambiente

3. Alvarenga, K. Factores de riesgos asociados a sepsis neonatal en el SILAIS Managua. Disponible en:

http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=OMS+5.000.000+RECIEN+NACIDOS&source=web&cd=7&ved=0CGAQFjAG&url=http%3A%2F%2Fcampus.easp.es%2FAbierto%2Fmod%2Fresource%2Fview.php%3Finpopup%3Dtrue%26id%3D2728&ei=XHEIUMG0EITG0AGKxLTbAw&usg=AFQjCNFFrbM-t2N13Yf0Ot9cKergEKNEbw

4. Struthers,k, Bacteriología clínica. España. 2005 pag. 37,38

5. Eastham. Guía de Laboratorio para el Diagnóstico clínico. 1ra ed. Buenos aires. Panamericana. Pag. 51,53.

6. Diario El Comercio. Disponible en:

http://www.elcomercio.com/sociedad/Ecuador-quinta-mortalidad-neonatal-region_0_448155187.html.

7. Thomas, D. Microbiología Médica, 2da ed. México. Interamericana, 1993. Pag. 185,189

8. Diario La Hora. Áreas de neonatología, vulnerables, 13 de Marzo de 2011. Disponible en: http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101108559/-1/%C3%81reas_de__neonatolog%C3%ADa,_vulnerables.html#.UAnzLaDfbLw

9. Hok, W. Métodos clínicos. 2da edi. México. 2002. Interamericana 1980. Pag, 243-248

10. Gilberto, A. Interpretación clínica del laboratorio. 6 ed. Bogotá. Médica 2000. Pag: 447

11. Vandepitte, J. Métodos básicos de laboratorio en bacteriología clínica Ginebra-suiza, 1993. Pag: 62,72

12. ZinsserHelnick. Microbiología. Editorial Médica Panamericana. 20a Edición. Pág. 22

13. Jawetz, JL. Microbiología médica. México. 2002. Pag 243-250

14. Patrick P. Murray. Microbiología Médica. 5ta Edición. Editorial Elsevier. 2007. Pág. 193,194,195,196,197

15. Zaragoza R. Gimeno C. Microbiología Aplicada al paciente crítico. Editorial Médica Panamericana. 2007. Pág. 69,78,79

16. Prats G. Microbiología Clínica. 1era Edición. Editorial Médica Panamericana. 2008. Pág. 17,18

17. Laguna, J. Bioquímica de laguna. 5ta ed. México. Interamericana 2002. Pag.134

18. Lira, L. altas de pruebas bioquímicas para identificación de bacterias.2003.

19. Guía de prácticas de Laboratorio de Microbiología, 2do tomo, Dr. Wilson E. Salazar Delgado, Pág., 232

20. Recomendaciones de la sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica.

21. Boletín Médico del Hospital Infantil de México. ene/feb2006supplement, Vol. 63, pS47-S48. 2p.

22. RevistasBolivianas:

http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1652-67762005000100002&lng=pt&nrm=iso 28 de mayo del 2013

23. R Shimabuk, P Velasquez- Anfac. Med, 2004.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832004000100004, 14 de junio del 2013

24. Diario el comercio disponible su página

http://www.elcomercio.com/sociedad/medico-imputado-muerte-neonatos_0_637136452.html 14 de junio del 2013

25. Manual de técnicas, disponible en www.laborclin.com.br. Industria Brasileira 26 de junio del 2013

26. Heide 1999 La novobiocina fue autorizada para uso clínico con el nombre comercial de Albamycin (Pharmacia y Upjohn)http://traductor.babylon.com/espanol/a-espanol/Novobiocina/ 26 de junio del 2013

ANEXOS

INDICE DE ANEXOS

1. Instrumentos de recolección de datos

2. Procedimientos

3. Trabajo de campo

4. Solicitud dirigida al Director del Hospital Isidro Ayora para realizar el trabajo de campo

5. Certificación de aprobación para realizar el trabajo de campo

6. Certificación del trabajo de campo por parte del Jefe de Laboratorio.

7. Solicitud dirigida al Líder de Neonatología Dra. Nohava Izquierdo. Para la entrega de un tríptico de Información.

8. Certificación de la entrega del tríptico de información por parte del Líder de Neonatología Dra. Nohava Izquierdo.

ANEXO Nº1

REGISTRO DE DATOS

TEMA: Identificación de agentes bacterianos, mediante la técnica de hemocultivo en Neonatos, del Hospital Regional Isidro Ayora en el periodo Febrero-Mayo del 2013

N⁰	**NOMBRE Y APELLIDO**	**CODIGO**

ANEXO Nº2

REGISTRO DE RESULTADO

TEMA: Identificación de agentes bacterianos, mediante la técnica de hemocultivo en Neonatos, del Hospital Regional Isidro Ayora en el periodo Febrero-Mayo del 2013

FECHA:.....

CODIGO	SEXO	EDAD	NOMBRES Y APELLIDOS	HEMOCULTIVO POSITIVO	HEMOCULTIVO NEGATIVO	RESULTADO AGENTE PATÓGENO

ANEXO Nº3
PROTOCOLO HEMOCULTIVO

1. FASE ANALÍTICA

Esta fase contempla los diversos pasos del proceso del laboratorio clínico en los que transcurren los procedimientos de observación, identificación de la presencia de crecimiento y multiplicación de microorganismos.

1.1. PROCESAMIENTO DE LOS HEMOCULTIVOS

INCUBACIÓN- PRIMER DIA

Una vez inoculados los frascos se incuban a 35-37º C, durante diez días. Con los frascos se inspeccionan diariamente de forma manual con el fin de detectar signos que indiquen la presencia del crecimiento

Enturbiamiento,

Hemólisis,

Gas o

Presencia de colonias.

Hay microorganismos que crecen sin enturbiar el medio y por otra parte con el tiempo la sangre se hemoliza espontáneamente y el medio se enturbia aún sin crecimiento bacteriano , por ello se ha recomendado efectuar un subcultivo desde los frascos que sean visualmente negativos transcurridas las primeras 48 horas y otro el último día antes de desecharlo como negativo.

SEGUNDO DÍA

Se realiza la observación del frasco de hemocultivo en busca de alguna señal que indique crecimiento; y en caso de no verificar ninguna alteración en el medio se registra con fecha y hora; que no existe crecimiento bacteriano en 24 horas de incubación en el sistema Datalab.

TERCER DÍA

A las 48 horas de incubación a 37º C se hace visible macroscópicamente una ligera turbidez evidencia de la existencia de microorganismos. En condiciones de asepsia y con la ayuda de una jeringuilla estéril, se obtiene una pequeña cantidad de caldo y se realiza la siembra en agar sangre.

CUARTO DÍA.

Verificar si el Hemocultivo es positivo o negativo luego se subcultiva en:
Agar Sangre

Dejándolo caer 2 gotas de sangre inoculada de los Hemocultivos de las cuales se hace la siembra por estricción con asa de 1 ul. Incubar 48-72 horas a 370C
La lectura e interpretación del cultivo bacteriano se basa en el estudio de las características macroscópicas y microscópicas del cultivo observado a las 24 horas de incubación a 37ºC.

ANEXO Nº4

Protocolo para diferenciar cocos Gram positivos de cocos Gram negativos mediante tinción de Gram en los hemocultivos

Método de la tinción de Gram

El empleo de la solución y del método de tinción de Gram, es de enorme importancia bacteriológica y ha permitido clasificar morfológicamente en dos grandes grupos que facilitan su estudio:

1. Bacterias Gram positivas
2. Bacterias Gram negativas.

Protocolo

Muestra: Frotis de muestra de hemocultivos en un portaobjetos.

Método: Tinción de Gram/Microscopía

Una vez preparado y fijado el frotis se procede a la coloración en la siguiente forma:

1. Aplicar la solución decolorante violeta cristal durante 1 minuto
2. Lavar con agua, descartando este colorante
3. Poner la solución de lugol durante 1 minuto
4. Lavar con agua nuevamente el frotis
5. Poner la mezcla de alcohol-acetona y mover la lámina portaobjetos suavemente para lograr una decoloración uniforme
6. Lavar con agua
7. Poner el colorante de contraste, fucsina durante un minuto
8. Lavar nuevamente con agua
9. Secar la placa ya sea la medio ambiente o pasándola por la llama del mechero

Observar al microscopio utilizando el lente de inmersión (100x) por consiguiente se debe poner una gota de aceite de inmersión para luego reportar.

ANEXO Nº5

Cultivos de agar sangre

Preparación del medio de cultivo Agar sangre

1. Realizar la esterilización del área donde se prepara los medios de cultivo y colocar todos los materiales necesarios.

2. En un matraz verter agua destilada, con la ayuda de una probeta medir los 500 ml de agua destilada y trasvasar en el matraz elenmeyer.

3. Encerar la balanza y proceder a pesar la cantidad de 20 gr de Agar sangre y trasvasar en el matraz con los 500 ml de agua destilada para luego colocar un tapón al matraz.

4. Mezclar la preparación dando rotaciones suaves, y de inmediato colocar la preparación del Agar al calor.

5. Con la ayuda de un guante agitar suavemente la preparación hasta que hierva.

6. Luego retirar la preparación del fuego y dejar que se enfrié, para colocar la sangre y mezclar.

7. Esterilizar el área donde se colocará las cajas Petri estériles y verter medio en las cajas con la tapa hacia arriba hasta que se solidifique el medio.

8. Finalmente los medios de Agar sangre preparadas se deben colocar en refrigeración para conservarlos hasta su uso.

Procedimiento para realizar la siembra de la muestra de hemocultivos en Agar sangre

1. Rotular el Agar con el Nro. Del paciente

2. Con una jeringuilla se tomó la muestra de hemocultivo se procede a la inoculación de la muestra en una placa de Agar sangre

3. Rotar toda la superficie sobre el primer cuadrante de la placa, donde se inoculó la muestra.

4. A continuación esterilizar el asa para proceder a sembrar los tres cuadrantes restantes de la placa

ANEXO Nº6

Pruebas Bioquímicas: catalasa, coagulasa y novobiocina para diferenciar especies de *Staphylococcus* y TSI, Urea, SIM, Citrato y Lisina,

Para Cocos Gram positivos:

Prueba de la catalasa

La catalasa es una enzima propia de la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que poseen citocromos, con la excepción de *Estreptococos.* Su función es descomponer el peróxido de hidrógeno, desprendiendo oxígeno libre.

Procedimiento

Se coloca una gota de solución de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos. Sobre la solución se vierte una pequeña cantidad de las bacterias en crecimiento. La formación de burbuja (liberación de oxígeno) indica una prueba positiva.

Prueba de la coagulasa

El plasma citratado de conejo o humano se mezcla con un volumen igual de colonias en crecimiento sobre Agar sangre y se incuba a 370C. Si se forma coágulos en 1-4 horas la prueba es positiva.

Prueba de la novobiocina

Es un disco antimicrobiano nos ayuda a determinar la sensibilidad como resistencia de una cepa bacteriana.

Novobiocina mayor a 14 sensible: *Staphylococcus epidermidis*

Novobiocina menor a 14 resistente: *Staphylococcus saprophyticus*

Para Bacilos Gram negativos:

Prueba del TSI (Triple SugarIron o Triple Azúcar Hierro)

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único

medio. También permite la identificación de la producción de ácido sulfhídrico (SH2).

Esta es una prueba específica para la identificación de la familia Enterobacterias, con objetivo de diferenciar entre:

a. Bacterias fermentadoras de la glucosa

b. Bacterias fermentadoras de la lactosa

c. Bacterias fermentadoras de sacarosa

d. Bacterias productoras de SH2 a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.

Procedimiento:

Inocular los tubos de TSI con punta (asa recta). Introducir la punta hasta 3 a 5 mm del fondo del tubo. Tras retirar la punta del asa recta del fondo, estriar el pico de flauta con un movimiento hacia uno y otro lado. Incubar a 370C.durante 24 horas.

Resultados:

Pico de flauta alcalino/fondo alcalino: no hay fermentación de azucares. Características de bacterias no fermentadoras.

Pico de flauta alcalino/fondo ácido: Glucosa fermentada, lactosa ni sacarosa fermentadas.

Pico alcalino/fondo negro: Glucosa fermentada, ni lactosa ni sacarosa fermentada, producción de ácido sulfhídrico.

Pico de flauta ácido/fondo ácido: Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas. Puede producirse SH2.

A estos resultados se les agrega el resultado de la producción de gas.

Prueba de la urea

Se utiliza para la valoración de la producción de ureasa por algunas enterobacterias. Este medio contiene glucosa, peptona, urea y rojo de fenol. Las bacterias que producen ureasa a partir de la urea dan lugar al carbonato de amonio y el indicador se vuelve rojo purpura.

Resultado:

Positivo: cuando hay cambio de color en el medio de amarillo a rosa intenso.

Negativo: cuando se mantiene el color del medio amarillo.

Prueba de SIM

Es un medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno en un mismo tubo. Es útil para diferenciar miembros de la familia Enterobacteriaceae. **Procedimiento** A partir de un cultivo de 18-24 horas en medio sólido, sembrar por punción profunda con aguja de inoculación recta (no usar ansa con anillo). Se debe inocular el centro del tubo, y la punción debe abarcar 2 tercios de profundidad del medio de cultivo desde la superficie. Es importante que la siembra se realice en línea recta. Incubar Durante 24 horas, a 35-37 °C, en aerobiosis. Luego de la incubación, agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovac´s o de Erlich.

Resultados:

Positivo: agregando las gotas de Erlich la solución cristalina adquiera un color rosa fuerte o rojo.

Negativo: no hay cambio de color.

Motilidad: se traduce por diseminación de la opacidad bacteriana a partir del trayecto de la picadura de inoculación (reacción positiva).

Si la motilidad es negativa, el crecimiento se encuentra restringido al trayecto de la picadura.

Negro (precipitado), producción de SH2

Prueba del citrato

La utilización de citrato como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de enterobacterias. La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta en un medio de cultivo con citrato como única fuente de

carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6

Procedimiento

Se inocula el agar inclinado en una sola estría en el pico. Utilizar un cultivo de 24 horas en un medio sólido y cuidando no arrastrar medio de cultivo, ya que se pueden producir falsos positivos por crecimiento a partir del medio de cultivo del inóculo. Incubar a 35°C durante 4 días. El ensayo es positivo cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría, acompañado o no de un viraje del indicador al azul.

Resultados

Positivo: cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría y con un cambio de color de verde azul.

Negativo: cuando no hay crecimiento a lo largo de la estría y el medio conserva su color verde**.**

Prueba de Lisina

Esta prueba permite diferenciar los microorganismos que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se pude detectar además la producción de SH2 y es más sensible que el TSI para la detección de SH2. Es muy utilizado para descartar Salmonella de aislamientos primaros.

Procedimiento:

Inocular en forma de estría las cepas de micro organismo en el medio de cultivo e incubar por 24 horas a 37°.

Resultado:

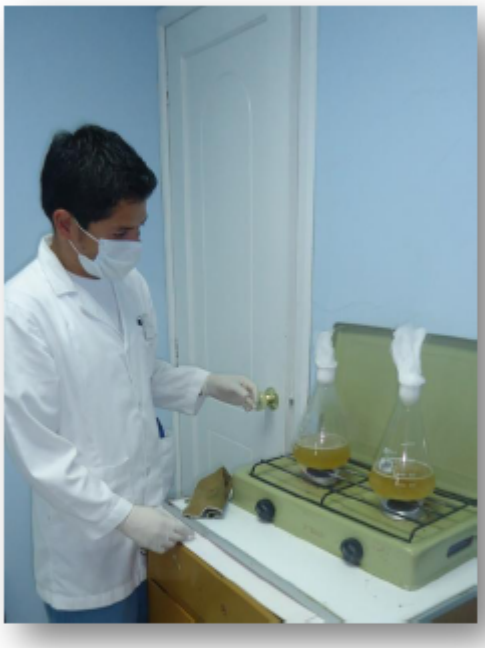
Positivo: cuando no hay crecimiento en la estría y mantiene su color azul

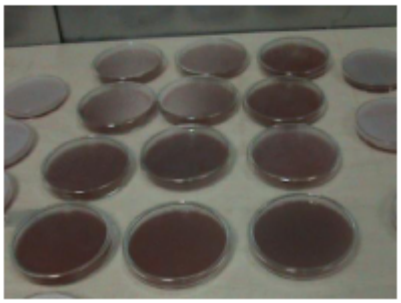
Negativo: cuando hay crecimiento en la estría y cambia de color a amarillo.

ANEXO Nº7

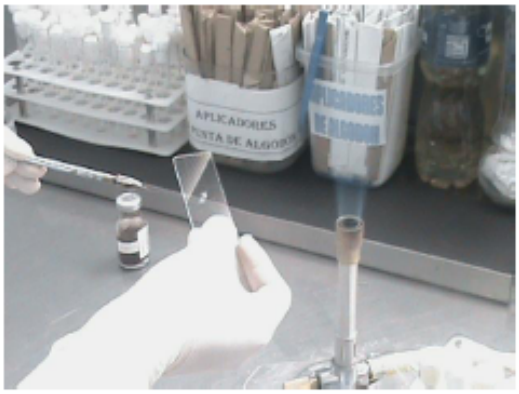
Fotos del trabajo de campo en el Hospital Regional Isidro Ayora

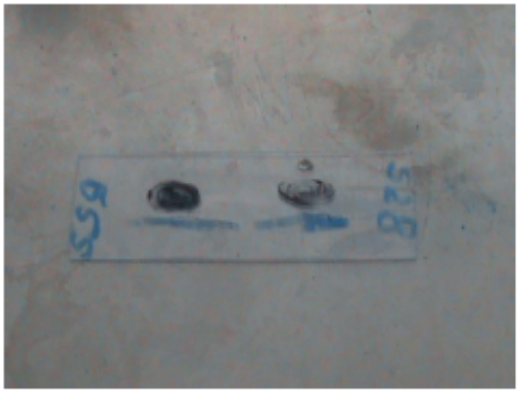
Preparación del medio de Agar sangre





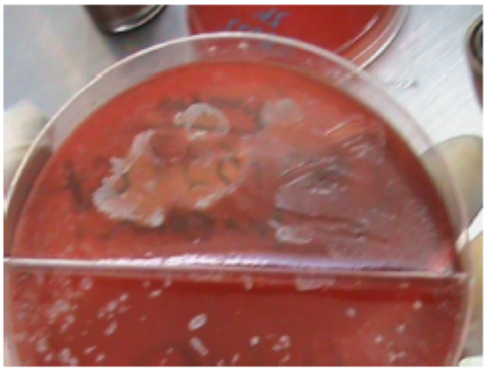
Tinción de Gram

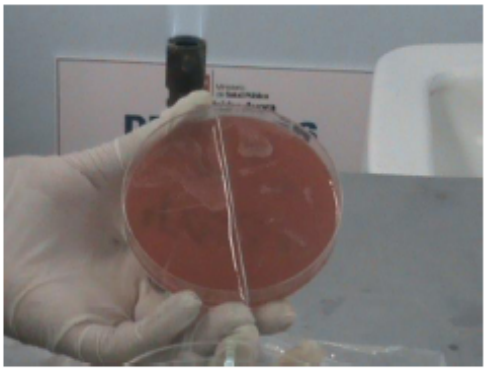




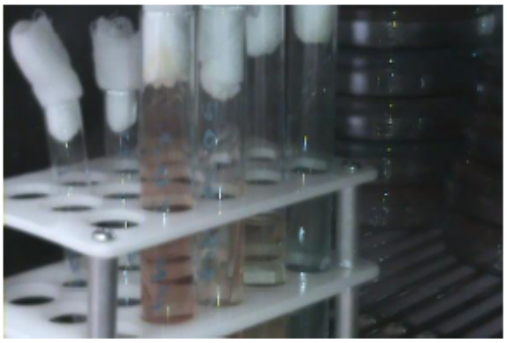
Siembra de muestra de hemocultivos en medio de cultivo Agar sangre

Crecimiento de colonias

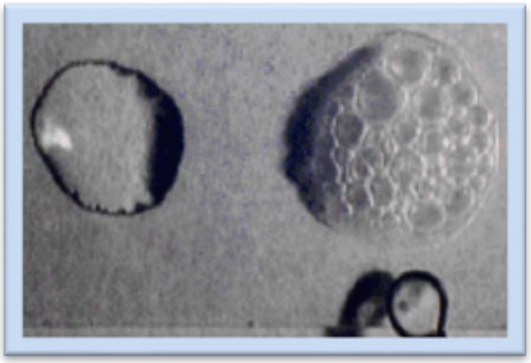




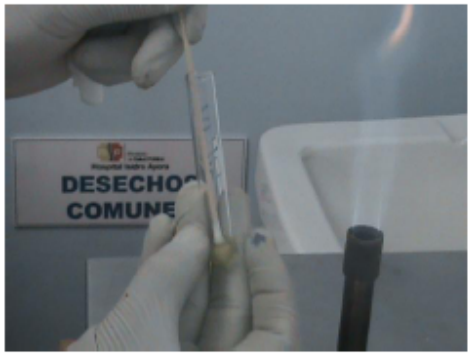
Pruebas Bioquímicas

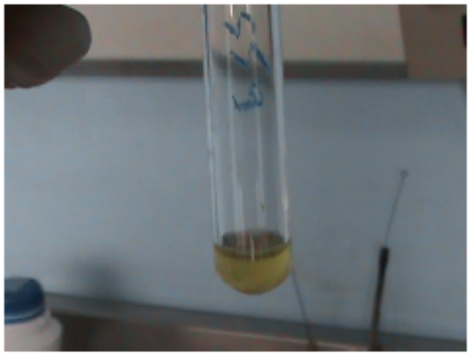


Prueba de la catalasa

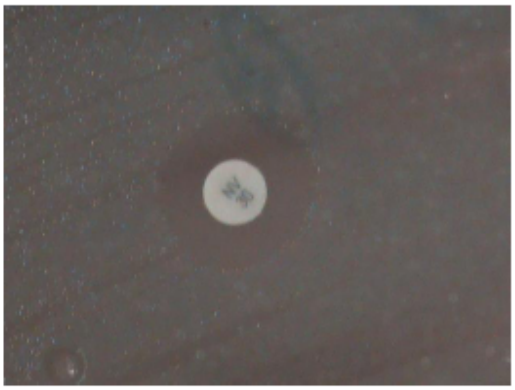


Prueba de la coagulasa





Prueba de la novobiocina



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS, MEDIANTE LA TÉCNICA DE HEMOCULTIVO EN NEONATOS, DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA

Autor:

Jackson Iván Salazar Br.

Asesor:

Dra. Marcia Mendoza

Loja – Ecuador

2013

Sepsis Neonatal: Es la infección aguda con manifestaciones toxico-sistémicas, ocasionadas por la invasión y proliferación de bacterias dentro del torrente sanguíneo y en diversos órganos que ocurre dentro de las primero cuatro semanas de vida y es demostrada por hemocultivo positivo.

Estos recién nacidos tienen historia de una o más factores de riesgo obstétrico, tales como rotura prematura de membrana, parto prematuro, corioamnionitis, fiebre materna peripato; además muchos de estos niños son prematuros o de bajo peso al nacer.

Los gérmenes responsables se adquieren en el canal del parto

Hemocultivo: Un hemocultivo es un cultivo microbiológico de la sangre. Es un método diagnóstico en medicina empleado para detectar infecciones que se trasmiten a través de torrente sanguíneo (Bacteriemia).

RECOMENDACIÓN:

1. Que al momento de efectuar el procedimiento de hemocultivo se empleen materiales e instrumentos estériles con el fin de evitar contaminación externa de la muestra, y por ende evitar en lo principal datos errados o falsos positivos.

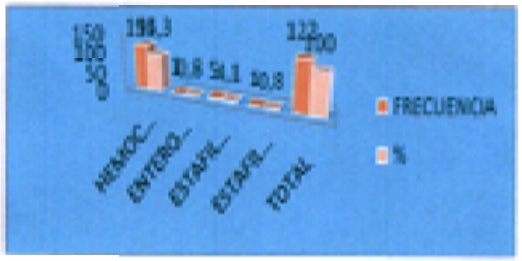
2. Que el personal que efectúe los hemocultivos acate las medidas de bioseguridad para evitar el riesgo de contaminación personal y propagación del foco infeccioso a otros lugares al exterior del centro hospitalario.

3. Se debe mejorar las condiciones de salubridad y esterilización Hospitales a nivel nacional, especialmente en las áreas de neonatología con el fin de evitar brotes de infecciones por agentes bacterianos, especialmente por *StaphylococcusEpidermidis*.

4. A las Autoridades de Ministerio de Salud Pública que implementen programas de capacitación al personal de salud, con el fin de mejorar la prevención de infecciones en neonatos, y reducir de esta manera el indice de mortalidad y morbilidad.

RESULTADO:

BACTERIAS FRECUENTES EN HEMOCULTIVO DE NEONATOS FEBRERO A MAYO DEL 2013



Fuente: Sistema de Datalab del Laboratorio Clínico del Hospital Ixsdro Ayora
Autor: Jackson Iván Salazar Br.

De los 122 muestra con pedido de hemocultivos procedentes del área de neonatología el 5,7% fue positivo en una frecuencia mayor de *Staphylococcusepidermidis*con un 4,1% que comprende a 5 casos