

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS PRESENTES EN
CATÉTERES USADOS POR LOS PACIENTES, EN MANOS Y
OROFARINGE DEL PERSONAL QUE LABORA DENTRO DE LA UNIDAD
DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL DEPARTAMENTAL DE
NARIÑO**

**ANGELA BEATRIZ DELGADO CAICEDO
MAURICIO GALINDEZ SOLARTE**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2003**

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS PRESENTES EN
CATÉTERES USADOS POR LOS PACIENTES, EN MANOS Y
OROFARINGE DEL PERSONAL QUE LABORA DENTRO DE LA UNIDAD
DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL DEPARTAMENTAL DE
NARIÑO**

**ANGELA BEATRIZ DELGADO CAICEDO
MAURICIO GALÍNDEZ SOLARTE**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial
para optar el título de Biólogo con Énfasis en Microbiología**

Asesora:

Dra. MARIA HELENA ERAZO

Jefe Laboratorio clínico Hospital Departamental de Nariño

Coasesor:

Dr. ALVARO PAZOS MONCAYO

Director Departamento de Biología

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA ÉNFASIS MICROBIOLOGIA
SAN JUAN DE PASTO
2003**

Nota de aceptación

Alexandra España - Jurado

Pablo Fernandez Izquierdo - Jurado

María Elena Erazo - Asesora

Alvaro Pazos Moncayo - Coasesor

San Juan de Pasto, Octubre de 2003

**“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son
responsabilidad de sus autores”**

**Artículo 1º del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado del
Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.**

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan agradecimientos por su valiosa colaboración para el desarrollo de este trabajo a:

Dra. Maria Elena Erazo Paz, Bacterióloga, Especialista en hematología y Coordinadora ayudas diagnosticas y terapéuticas del Hospital Departamental de Nariño.

Dr. Álvaro Pazos Moncayo, M. Sc. Microbiología, Director del Departamento de Biología, Universidad de Nariño.

Dra. Consuelo Torres, Bacterióloga del Hospital Departamental de Nariño.

Dr. Arsenio Hidalgo Troya, M. Sc. Matemática Aplicada, Vicerrector de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Nariño.

Enfermera Jefe. Rocío Ortega. Miembro del Comité de Vigilancia del Hospital Departamental de Nariño. COVE.

Dr. Armando Chamorro, Médico cardiólogo de la Unidad de Cuidados Intensivos Hospital Departamental de Nariño.

Dra. María Clara Yépez, M.Sc. Ciencias Biomédicas, Directora del Centro de Estudios en Salud Universidad de Nariño CESUN.

Dr. Pablo Fernandez Izquierdo Universidad de Nariño.

Dra. Alexandra España, Bacterióloga Prosalud Pasto.

Personal del Laboratorio Clínico y Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Departamental de Nariño.

Y a todas las personas que colaboraron de alguna manera en la consecución de este trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	21
1. OBJETIVOS	23
1.1 OBJETIVO GENERAL	23
1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	23
2. ANTECEDENTES	24
3. MARCO TEORICO	26
3.1 INFECCIONES NOSOCOMIALES	26
3.2 AGENTES PATOGENOS MÁS COMUNES EN ENFERMEDADES NOSOCOMIALES	28
3.2.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	29
3.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	30
3.2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> metilino resistente (SARM)	32
3.2.3 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	33
3.2.4 <i>Cándida sp</i>	35
3.2.4.1 <i>Cándida albicans</i>	36
3.2.5 <i>Serratia marcescens</i>	36
3.2.5.1 <i>Serratia liquefaciens</i>	38
3.2.5.2 <i>Serratia odorífera</i>	38
3.2.6 <i>Klebsiella sp.</i>	39
3.2.6.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
3.2.6.2 <i>Klebsiella ozaenae</i>	40

3.2.6.3	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	40
3.2.6.4	<i>Klebsiella oxytoca</i>	41
3.2.7	<i>Citrobacter sp</i>	41
3.2.8	<i>Enterobacter sp.</i>	42
3.2.8.1	<i>Enterobacter aerogenes</i> y <i>E. Cloacae</i>	42
3.2.8.2	<i>Enterobacter sakazakii</i>	42
3.2.8.3	<i>Enterobacter agglomerans</i>	43
3.2.8.4	<i>Enterobacter gergoviae</i>	43
3.2.9	<i>Hafnia alvei</i>	43
3.2.10	<i>Proteus sp.</i>	44
3.2.10.1	<i>Proteus mirabilis</i>	44
3.2.10.2	<i>Proteus vulgaris</i>	44
3.2.11	<i>Pseudomonas sp.</i>	45
3.2.11.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
3.2.11.2	<i>Pseudomonas maltophilia</i>	47
3.2.11.3	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	47
3.2.12	<i>Moraxella catharralis</i>	47
3.3	PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS	48
3.3.1	Agar hierro tres azúcares (TSI)	48
3.3.1.1	Forma de actuación	48
3.3.2	Agar lisina - hierro (LIA)	48
3.3.2.1	Forma de actuación	48

3.3.3	Agar citrato SIMMONS	49
3.3.3.1	Forma de actuación	49
3.4	CALDO MR- VP (CALDO ROJO DE METILO Y VOGES PROSKAUER	49
3.4.1	Forma de actuación	50
3.5	MEDIO DE CULTIVO SIM	50
3.6	UREA DE CHRISTENSEN	50
3.7	AGAR MANITOL-SAL COMÚN- ROJO DE FENOL	51
3.7.1	Forma de actuación	51
3.8	PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN	51
3.8.1	Coloración de Gram	51
3.8.2	Elementos usados en el proceso de tinción	51
3.8.3	Procedimiento	53
3.9	PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS	54
3.9.1	Prueba de la Catalasa	54
3.9.2	Prueba de la Oxidasa	54
3.9.3	Medios y Reactivos	54
3.10	CARACTERISTICAS DE LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL DEPARTAMENTAL DE NARIÑO	55
4.	METODOLOGÍA	57
4.1	TOMA DE MUESTRAS E INOCULACION	57
4.2	PURIFICACION E IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS	59
4.3	AGAR HIERRO TRES AZUCARES (TSI)	60

4.3.1 Inoculación en los agares de identificación	60
4.3.2 Interpretación de resultados	60
4.4 AGAR LISINA HIERRO (LIA)	60
4.4.1 Inoculación e interpretación de resultados	60
4.5 AGAR DE CITRATO DE SIMMONS	61
4.5.1 Inoculación e interpretación de resultados	61
4.6 CALDO MR-VP (ROJO DE METILO VOGES PROSKAUER)	62
4.6.1 Inoculación e interpretación de resultados	62
4.7 SIM	62
4.7.1 Inoculación e interpretación de resultados	62
4.8 PRUEBA DE INDOL	63
4.8.1 Interpretación de resultados	63
4.9 UREA DE CHRISTENSEN	63
4.9.1 Inoculación e interpretación de resultados	63
4.10 MANITOL (SAL COMÚN ROJO DE FENOL)	63
4.10.1 Inoculación e Interpretación de resultados	63
4.11 PRUEBAS DE IDENTIFICACION COMPLEMENTARIAS	64
4.11.1 Factor de coagulación	64
5 ANÁLISIS COMPARATIVO PARA DATOS RETROSPECTIVOS Y PROSPECTIVOS EN CATÉTERES MEDIANTE PRUEBA Z	66
5.1 FORMULA DE LA PRUEBA Z	66
6 RESULTADOS	67
6.1 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA <i>Cándida sp</i>	68

6.1.1 Factores de riesgo	68
6.2 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA <i>Serratia sp.</i>	68 69
6.2.1 Factores de riesgo	
6.3 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA <i>Klebsiella sp.</i>	69
6.4 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA <i>Citrobacter sp.</i>	70 70
6.4.1 Factores de riesgo	
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LAS MUESTRAS DE OROFARINGE Y MANOS	71
7.1 Prueba de Chi cuadrado	71
8. CONCLUSIONES	83
9. RECOMENDACIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXOS	89

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> en agar sangre	30
Figura 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figura 3. <i>Staphylococcus saprophyticus</i> en agar sangre	34
Figura 4. <i>Serratia marcescens</i> en agar Mc Conkey	37
Figura 5. <i>Klebsiella sp</i> en agar Mc Conkey	39
Figura 6. <i>Citrobacter freundii</i>	41
Figura 7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en agar muller hinton	46
Figura 8. Cristal violeta (hexametil pararosanilina)	52
Figura 9. Safranina (dimetil fenosaframina)	52
Figura 10 <i>Staphylococcus aureus</i> (Al microscopio electrónico)	59
Figura 11. Pruebas bioquímicas para bacterias Gram negativas	61
Figura 12. Prueba de coagulasa en tubos	65
Figura 13. Agrupación de microorganismos presentes en punta de catéter subclavio	76
Figura 14. Frecuencia de microorganismos en agar sangre, procedentes de manos	78
Figura 15. Frecuencia de microorganismos en manos, presentes en agar Mc Conkey	79
Figura 16. Frecuencia de microorganismos en agar sangre procedentes de orofaringe	80
Figura 17. Frecuencia de microorganismos en agar Mc Conkey procedentes de orofaringe	82

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Miembros de género <i>Staphylococcus</i> encontrados en los seres humanos y en algunos animales	35
Cuadro 2. Diferencia porcentual entre los datos retrospectivos y prospectivos para catéteres	67
Cuadro 3. Resultado de la asociación entre variables	72
Cuadro 4. Relación entre tipo de microorganismos presentes en orofaringe con crecimiento en agar Mc Conkey vs. Turno	74
Cuadro 5. Agrupación general de microorganismos presentes en punta de catéter subclavio	75
Cuadro 6. Frecuencia de microorganismos en agar sangre, procedentes de manos	77
Cuadro 7. Frecuencia de microorganismos en agar Mc Conkey procedentes de manos.	79
Cuadro 8. Frecuencia de microorganismos en agar sangre procedentes de orofaringe	80
Cuadro 9. Frecuencia de microorganismos en agar Mc Conkey procedentes de orofaringe	81

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Composición y preparación del agar sangre	90
Anexo B. Composición y preparación del agar Mc Conkey	91
Anexo C. Composición y preparación de agar triple azúcar hierro (TSI)	92
Anexo D. Composición y preparación de agar lisina hierro (LIA)	93
Anexo E. Composición y preparación de agar urea	94
Anexo F. Composición y preparación de agar citrato de Simmons	95
Anexo G. Técnica semicuantitativa de Maki	96

GLOSARIO

ABSCESOS: acumulación de pus en los tejidos orgánicos internos o externos.

ANTISEPSIS: sustancia que destruye las bacterias o impide su proliferación.

ANTIBIÓTICOS: sustancias producidas por algunos vegetales o animales que inhiben o destruyen otros microorganismos

ANTICUERPO: glucoproteína producida como respuesta a un antígeno; posee la capacidad de combinarse con el antígeno que estimuló su producción.

ANTIGENO: sustancia extraña al individuo, como una proteína, nucleoproteínas, polisacáridos o a veces un glucolípido, frente a la que responden los linfocitos; se denomina también inmunógeno porque induce la respuesta inmunitaria.

AMINOGLUCÓSIDOS: grupo de antibióticos entre los que se destaca la estreptomicina, que contiene aminoazúcares unidos por enlaces glucósidos.

ANTIBIOGRAMA: prueba por medio de la cual se logra identificar la sensibilidad que presentan los microorganismos clínicamente aislados con relación a un antibiótico determinado.

ASEPSIA: ausencia de infección o de materia séptica.

BACTEREMIA: aparición transitoria de bacterias viables en la sangre.

BACTERIA: las bacterias son organismos unicelulares ubicuos en la naturaleza, los cuales gracias a su gran capacidad de adaptación, pueden encontrarse en lugares desde 0°C hasta temperaturas de ebullición del agua. Las bacterias de importancia médica se clasifican en el reino procariones por tener un cromosoma que no está rodeado por membrana nuclear.

BACILO: bacteria alargada en forma de bastoncillo o filamento corto o largo, recto, o encorvado según la especie y generalmente reciben el nombre de su descubridor.

BRONCOPULMONIA CRÓNICA: es una obstrucción persistente de las vías respiratorias causada por enfisema o por bronquitis crónica.

BRONQUITIS CRONICA: tos crónica persistente que produce esputo y que no se debe a una causa única perceptible como el cáncer de pulmón

CATÉTER: sonda que se introduce por un conducto para explorarlo o dilatarlo o para servir como guía a otros instrumentos.

CDC: (Control Diseases Center) Centro de Control de enfermedades.

CÉLULAS LINFOIDES: células que participan en forma activa en la defensa inmunitaria del organismo.

CISTITIS: inflamación aguda o crónica de la vejiga urinaria.

DIAGNOSTICO: identificación de una enfermedad basándose en sus signos y síntomas.

DEFIBRILADOR: aparato que sirve para interrumpir un proceso de fibrilación cardíaca.

DESECACIÓN: operación que consiste en eliminar el agua contenida en una sustancia sin que se descomponga.

DIABETES: trastorno en el que los valores sanguíneos de glucosa (azúcar simple) son anormalmente altos dado que el organismo no libera insulina o la utiliza inadecuadamente

ELECTROCARDIÓGRAFO: instrumento para registro gráfico que indica los cambios de potencial eléctrico producidos durante la actividad cardíaca.

ENDÉMICO: común o constantemente presente en una población, enfermedad generalmente con la frecuencia baja, relativamente constante.

ENFERMEDAD NOSOCOMIAL: infecciones que se extienden fácil y rápidamente en el ambiente hospitalario.

ENFISEMA: ensanchamiento de los pequeños sacos de aire de los pulmones y la destrucción de sus paredes

EPIDEMIA: enfermedad cuya incidencia aumenta repentinamente por encima del nivel normal en una población determinada.

ESPUTO: sustancia semilíquida que se expulsa en cada expectoración por la boca.

EXPECTORAR: arrancar y expulsar por la boca las flemas y secreciones que se depositan en los órganos respiratorios.

FAGOCITOSIS: mecanismo durante el cual los fagocitos destruyen los microorganismos nocivos en la célula.

FIBRINA: sustancia albuminoidea insoluble en agua y en los líquidos salinos, producida por la coagulación de otra sustancia también albuminoidea que se halla disuelta en ciertos líquidos como la sangre y la linfa, llamada fibrinógeno.

FIBRILACIÓN: contracción parcial de las fibras del miocardio.

FLAGELO: filamento largo y fino dotado de movimientos ondulantes o de látigo, que sale de una célula.

GLÁNDULAS SUDORÍPARAS: glándulas que excretan fluidos a través de la piel, llamado sudor.

GLÁNDULAS ENDOCRINAS: glándulas que vierten subproductos en el interior del organismo.

GLANDULAS EXOCRINAS: glándula provista de un conducto excretor, por el cual salen las sustancias que aquella ha preparado.

HACINAMIENTO: amontonar, juntar sin orden cosas o personas.

HERIDAS POSTOPERATORIAS: lesiones de los tejidos producidas por una cirugía.

HEMODIÁLISIS: proceso mediante el cual la sangre del cuerpo que se bombea al interior de una maquina se filtra y se eliminan sustancias tóxicas para luego ser bombeada como sangre purificada de vuelta al cuerpo.

HIFA: filamento del tallo de un hongo.

HONGO: los hongos poseen paredes celulares gruesas, crecen en formas perfectas con reproducción sexual *in vitro* y en formas imperfectas *in vivo*, con células levaduriformes con yemas y tubos delgados (Hifas).

HOSPEDERO: parásito que se aloja en un ser vivo.

HUÉSPED: cuerpo de un organismo que aloja a otro. Se puede considerar como un microambiente que protege y mantiene el crecimiento y la multiplicación del organismo parásito.

INFECCIÓN: penetración y desarrollo dentro de un organismo, de microbios patógenos que permanecen localizados y vierten sus toxinas en la sangre.

INMUNODEPRESIÓN: estado de un organismo en que la formación de anticuerpos es baja, disminuyendo la reacción frente a los antígenos.

INVASIVO: penetración masiva de gérmenes patógenos en el organismo seguido o no de infección.

JCAH: Comisión de Acreditación de Hospitales.

MENINGITIS: proceso inflamatorio de las leptomeninges y del líquido cefalorraquídeo existente en el espacio subaracnoideo. La meningitis infecciosa puede clasificarse en términos generales como: bacteriana, vírica o fúngica.

MICRONEBULIZADORES: instrumento para la conversión de un líquido en una nube de vapor por una corriente de aire.

MICROBIOTA: microorganismos asociados normalmente con un tejido o estructura particular, población microbiana autóctona.

MORBILIDAD: incidencia de la enfermedad en una población, incluyendo casos mortales y no mortales.

MORTALIDAD: incidencia de muertes en una población.

MUERMO: enfermedad bacteriana infecciosa, que se caracteriza por la formación de nódulos, abscesos y úlceras en las vías respiratorias y la piel, especialmente en caballos, asnos y mulas. Es causada por *Pseudomonas mallei*.

NEONATO: nombre dado al recién nacido.

NEOPLASIA: formación de un tejido cuyos elementos sustituyen a los de los tejidos normales.

NOSOCOMIUN: palabra latina que significa Hospital.

OCENA: enfermedad de las fosas nasales caracterizado por un olor fétido.

PATÓGENO: se refiere a un organismo o material que produce una enfermedad.

PATOLOGÍA: rama de la medicina que se dedica al estudio de las enfermedades desde el punto de vista clínico.

PIELONEFRITIS: inflamación de la pelvis y el parénquima del riñón causado por cálculos.

PRUEBA DE SCREENING: prueba utilizada para diferencia *Staphylococcus aureus* de otras especies de estafilococos.

QUINOLONAS: antibióticos utilizados para contrarrestar infecciones bacterianas de las vías respiratorias.

RETÍCULO ENDOTELIAL: sistema de fagocitos localizados en el tejido conjuntivo reticular, por ejemplo bazo, tejidos linfoides.

RINITIS: inflamación de las mucosas de las fosas nasales.

RINITIS ATRÓFICA: rinitis crónica en la que la membrana mucosa se vuelve más fina (atrofia) y se endurece, haciendo que los conductos nasales se ensanchen.

SARM: *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes.

SEPTICEMIA: género de enfermedades infecciosas causadas por intoxicación de la sangre que se produce por gérmenes patógenos.

TERAPIA: sufijo de origen griego que significa tratamiento, método que se utiliza para curar enfermedades.

TRAQUEOTOMÍA: abertura practicada artificialmente en la traquea, en caso de obstrucción de las vías respiratorias, para impedir la asfixia del interno.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

URETRITIS: inflamación de la membrana mucosa que recubre el conducto central.

VIH: infección causada por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, provocando una depresión del sistema inmunológico.

RESUMEN

En el Hospital Departamental de Nariño, la prevención de las infecciones es una de las grandes preocupaciones y al mismo tiempo una de las bases fundamentales dentro del proceso de creación de una conciencia preventiva no solo dentro del personal de salud sino también en la población beneficiaria.

Procesos tales como la limpieza, desinfección y esterilización brindan seguridad a los pacientes y al personal hospitalario teniendo en cuenta que en muchos centros de salud las infecciones nosocomiales se presentan con mayor frecuencia; debido a casos de infección no reconocidos o no diagnosticados.

Las infecciones nosocomiales se definen como una condición localizada o sistémica resultante de la reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina, sin la evidencia de que la infección estuviese presente o en incubación al momento de ingreso al hospital.

Según lo anterior, es muy importante la identificación de agentes patógenos presentes en los catéteres usados por los pacientes dentro de la unidad de cuidados intensivos, por ser dispositivos que tienen contacto directo con el torrente sanguíneo o con áreas estériles del cuerpo del paciente; elevando el riesgo de contraer infecciones en caso de que estos estén contaminados, igual importancia presenta la identificación de microorganismos patógenos en la región orofaríngea y en las manos del personal de salud que labora dentro de esta unidad, debido al permanente contacto con los pacientes, convirtiendo al cuerpo médico, de enfermería, y demás en potenciales medios de transporte para los microorganismos sumados al limitado cumplimiento de las normas de bioseguridad por parte de algunos profesionales.

ABSTRACT

In the Departmental hospital of Nariño, the infections -prevention is one of the big concerns and at the same time one of the fundamental bases inside the creation process of a preventive conscience not only inside the clinic staff but also in the beneficiary population it self.

Such processes as the cleaning, disinfection and sterilization offer security to the patients and the health staff bearing in mind that in many health centers of health the nosocomial infections are presented with more frequency; due to not known or not diagnosed.

The nosocomial infections are defined as a located cases of infection or systemic condition resultant of the adverse reaction to the presence of an infectious agent or its toxin, without the evidence that the infection is present or in incubation at the entrance moment to the hospital.

According to the mentioned above, is very important the identification of pathogens agents present in the catheters used by the patients inside the unit of intensive cares for being, devices that have a direct contact with the blood stream or with sterile areas of the patient's body; increasing the risk of contracting infections in case they are infected, the same level of importancy presents the identification of patogens microorganisms in the oropharyngeal zone and in the hands of the hospital staff that works inside this unit, due to the permanent contact with the patients, turning the nursing and doctors staff into a potential means of transport for the microorganisms added to the limited execution of the biosecurity policies from some professionals.

INTRODUCCION

Durante los últimos años, los procedimientos de diagnóstico, terapia y monitoreo mínimamente invasivo dentro del campo de la medicina se encuentra en pleno auge a nivel mundial. No obstante la fuerte lucha que el hombre ha mantenido desde siglos atrás contra los microorganismos patógenos aún sigue viva.

Sin embargo, a pesar del desarrollo científico y tecnológico actual, día a día se establecen grandes variaciones en la forma como usualmente se presentan los gérmenes causantes de enfermedades nosocomiales, así como la aparición de nuevas cepas de microorganismos oportunistas.

Lo anterior se ve favorecido en gran medida por fallas de tipo técnico organizacional y de control y aquellos que como en los países en vía de desarrollo tiene que ver con la disposición de los recursos (instrumental, medicamentos, personal, etc.) con que cuentan las entidades prestadoras de salud, así como la condición misma del paciente.

Dentro de las fallas técnicas se encuentran aquellas que tienen que ver con los procedimientos de asepsia y antisepsia y con el cumplimiento de normas de bioseguridad, todo esto sumado a la condición “susceptible” del paciente es lo que en últimas se traduce en la aparición de enfermedades nosocomiales.

En el hospital departamental de Nariño, la prevención de las infecciones es una de las grandes preocupaciones y al mismo tiempo una de las bases fundamentales dentro del proceso de creación de una conciencia preventiva no solo dentro del personal de salud sino también en la población beneficiaria.

Procesos tales como la limpieza, desinfección y esterilización brindan seguridad a los pacientes y al personal hospitalario teniendo en cuenta que en muchos centros de salud las infecciones nosocomiales se presentan con mayor frecuencia; debido a casos de infección no reconocidos o no diagnosticados, por lo tanto la prevención de las infecciones produce como resultado un ahorro financiero directo para los hospitales, sin olvidar que la vigilancia, la recogida, la confrontación, el análisis y la distribución de los datos constituye la esencia de un programa de control para las infecciones.

Se entiende como infección al fenómeno que atenta contra el curso normal de los procesos vitales y que ocurre por falta de prevención en situaciones que se encuentran en la vida diaria dentro de la convivencia interpersonal y su relación con los diferentes elementos

de la naturaleza. Por otro lado las infecciones nosocomiales se definen como una condición localizada o sistémica resultante de la reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina, sin la evidencia de que la infección estuviese presente o en incubación al momento de ingreso al hospital¹.

Conocer los factores implicados en el desarrollo de infección en un hospital constituye el primer paso para poder actuar sobre ellos. Se sabe que el origen de la infección hospitalaria está fundamentalmente influido por dos grupos de factores: Intrínsecos o propios del paciente y extrínsecos, aquellos derivados de las técnicas invasivas a las que se somete al paciente a lo largo de su ingreso, muchos de estos factores están directamente relacionados con la actividad diaria de cuidados de enfermería y dentro de estos la unidad de cuidados intensivos es una de las dependencias fundamentales dentro de una clínica u hospital, dado que fue creada para atender o manejar pacientes que están críticamente enfermos, entendiendo como paciente crítico aquel que tiene una enfermedad o patología que amenaza su vida en corto tiempo².

Según lo anterior, el estudio se basó en la identificación de agentes patógenos presentes en los catéteres usados por los pacientes dentro de la unidad de cuidados intensivos, ya que estos son artículos o dispositivos que tienen contacto directo con el torrente sanguíneo o con áreas estériles del cuerpo del paciente; elevando el riesgo de contraer infecciones en caso de que estos estén contaminados. Por otro lado también se analizó la presencia de microorganismos en la región orofaríngea y en las manos del personal de salud que labora dentro de esta unidad.

¹Navarrete Navarro, Susana. Asociación Mexicana para el estudio de las infecciones nosocomiales, AC. www.ameinac@yahoo.com.mx.

² MADIGAN, Michael; MARTINKO, Jhon y PARKER, Jack Brock. Biología de los microorganismos. 8ª ed. Madrid : Prentice-hall, 1999. p 916

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar los microorganismos patógenos presentes en catéteres usados en pacientes, en las manos y zona orofaríngea del personal que labora en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Departamental de Nariño.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la frecuencia de bacterias patógenas en catéteres utilizados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Departamental de Nariño.
- Describir el tipo de microorganismo más frecuente encontrado en la región orofaríngea de las personas que laboran en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Departamental de Nariño.
- Determinar la frecuencia de microorganismos patógenos presentes en las manos del personal que labora dentro de la Unidad de cuidados Intensivos del Hospital Departamental de Nariño.
- Establecer la relación entre los microorganismos patógenos, el turno y el personal, que labora dentro de la unida de cuidados intensivos del hospital Departamental de Nariño.

2. ANTECEDENTES

Desde hace varias décadas se utilizaron varias medidas de aislamiento en los hospitales, pero su aplicación resultaba caótica pues cada quien las interpretaba a su manera. Los centros de control de enfermedades en estados Unidos (CDC) publicaron en 1970 un manual de aislamiento en hospitales en donde se proponían varias categorías de aislamiento (estricto, respiratorio, de protección, etc.). Aunque tuvieron alguna acogida en los Estados Unidos, pasaron casi inadvertidos en el resto del mundo, a pesar de revisiones en la década de los ochenta. Con la epidemia del SIDA, aparecieron las precauciones conocidas como Precauciones Universales y se propuso una categoría adicional de aislamiento de sustancias corporales.

La aplicación de las medidas siguió siendo irregular, por lo que los CDC propusieron nuevas guías que buscan una aplicación más amistosa, con mayor fundamento epidemiológico y menor confusión de términos. Estas recomendaciones evitan infecciones en el paciente y en el personal. En la década pasada comenzaron a aplicarse las Precauciones Universales para el contacto con todos los pacientes.

Estas consideran a todos los pacientes potencialmente infectantes y se refieren a evitar al contacto directo con líquidos corporales. La mayoría de las infecciones nosocomiales pueden ser adquiridas por el paciente debido a complicaciones de la terapia parenteral, generalmente por no apegarse a normas elementales, tales como la mezcla de soluciones en áreas inadecuadas, canalizaciones fallidas donde se punciona varias veces con el mismo equipo, etc.

Según informes de diversos centros hospitalarios las infecciones por microorganismos patógenos y hongos oportunistas han aumentado drásticamente en las unidades de cuidados intensivos y demás dependencias donde son llevados a cabo procesos invasivos, causando morbi-mortalidad en los pacientes con factores de riesgo para la colonización por dichos microorganismos.

Existen múltiples conductas y factores de riesgo, el sitio de origen mas comúnmente descrito es el catéter, que se contamina al momento de la punción, o por migración de flora de la piel los días siguientes a la colocación.

Cuando las infecciones se originan en el catéter vascular suelen estar causadas por gérmenes gram positivos generalmente del género *Staphylococcus*.

Otro factor de importancia en la infección por cateterismo es en el momento de su aplicación en pacientes que han sido aseados con agua contaminada, en cuyo caso la infección suele ser causada por gérmenes gram negativos³.

Por lo tanto, la importancia de ésta investigación radica en la necesidad de crear conciencia en el personal hospitalario sobre las consecuencias que trae la deficiente manipulación de las diferentes muestras biológicas, así como la importancia de seguir las normas de bioseguridad cuyo objetivo es el de evitar una propagación de brotes o epidemias.

³ WWW. Educacionmedica.com.mx.

3. MARCO TEORICO

3.1 INFECCIONES NOSOCOMIALES

Un Hospital puede no ser solo un lugar en donde se cura a las personas enfermas, sino un lugar donde las personas enfermas se ponen más enfermas. Las infecciones cruzadas de paciente a paciente o dentro del personal dentro del hospital y los pacientes, constituyen un peligro constante. Las infecciones hospitalarias suelen denominarse infecciones nosocomiales (Nosocomium es la palabra latina para Hospital) y tiene lugar en aproximadamente el 5% de los enfermos admitidos. En ciertos servicios clínicos como en las unidades de cuidados intensivos, más del 10% de los pacientes adquieren una infección nosocomial.

Las infecciones hospitalarias se deben en parte a los pacientes enfermos, pero con frecuencia se deben a la presencia de microorganismos patógenos que se han seleccionado y se mantienen en el ambiente del hospital. La mayoría de las infecciones nosocomiales son endémicas más que epidérmicas.

Estas infecciones las producen organismos que ya están en el ambiente del hospital. Incluso organismos con resistencia múltiple a los fármacos con frecuencia pasan de hospedador a hospedador como microbiota normal. Por tanto, prácticamente todos los patógenos nosocomiales importantes forman parte de la microbiota, tanto de pacientes como del personal sanitario.

Los hospitales son ambientes especiales. Las enfermedades infecciosas se extienden fácil y rápidamente en el ambiente hospitalario por varias razones:

- En muchos pacientes se ha debilitado la resistencia a las enfermedades infecciosas a causa de su dolencia.
- En los hospitales se trata a pacientes que padecen enfermedades infecciosas y sus pacientes pueden ser reservorios de patógenos altamente virulentos.
- La aglomeración de pacientes en las habitaciones aumenta la probabilidad de infecciones cruzadas.

- El personal del hospital se mueve de un paciente a otro, aumentando la probabilidad de transferencia de patógenos.
- Muchos procedimientos hospitalarios como la cateterización llevan el riesgo de introducir microorganismos patógenos en el hospedador.
- Los procedimientos quirúrgicos constituyen un importante riesgo por que no solo exponen órganos internos a las fuentes de contaminación, sino que además el estrés de la cirugía disminuye la resistencia del paciente a la infección.
- Muchos fármacos utilizados para la inmunodepresión aumentan la susceptibilidad a la infección.
- El uso de antibióticos para controlar la infección conlleva el riesgo de seleccionar microorganismos resistentes a antibióticos, que luego no pueden ser fácilmente controlados si producen una posterior infección⁴.

El término infección se refiere al crecimiento de microorganismos en el hospedador, por otro lado una Infección no es sinónimo de enfermedad porque la infección no conduce siempre al daño en el hospedador, incluso en el caso de que el patógeno sea potencialmente virulento. Cuando se establece la enfermedad, el hospedador se encuentra lesionado de alguna manera, mientras que la infección hace alusión a cualquier situación en la que un microorganismo se está desarrollando y estableciendo en un hospedador, causando o no daño en él.

Las infecciones nosocomiales aparecen cuando las barreras naturales son vulneradas durante el proceso de invasión microbiana o cuando el paciente se debilita a causa del estrés por la hospitalización o por la patología que causó su internación. La piel, las membranas mucosas del tracto gastrointestinal, las vías urinarias y las vías respiratorias superiores actúan como barreras naturales contra el establecimiento de infecciones, sin embargo muchas de las técnicas modernas como la cirugía y las técnicas de soporte de la vida (intubación naso traqueal o catéteres intravasculares), vulneran las barreras⁵.

⁴ . MADIGAN, *Op.Cit.*, p 916.

⁵ . PIATKIN, Yuri, *Microbiología con virología e inmunológica*. 3ª ed. Moscú : MIR, 1989. p 69-70

Un hombre adulto tiene en promedio, aproximadamente 2 metros cuadrados de superficie de piel que puede variar en cuanto a composición química y humedad; la mayoría de los microorganismos de la piel se asocia directa o indirectamente con las glándulas sudoríparas. Las glándulas eccrinas se distribuyen desigualmente por el cuerpo, con mayores concentraciones en las palmas, almohadillas de los dedos de las manos y plantas de los pies. Parece que las glándulas eccrinas se hallan desprovistas de microorganismos debido al extenso flujo de líquido, ya que cuando se interrumpe el flujo de una glándula eccrina se produce la invasión y multiplicación bacteriana.

La anatomía del tracto respiratorio superior consta de: orofaringe, cavidad oral y garganta, los microorganismos viven primariamente en áreas bañadas con las secreciones de las membranas mucosas. Las bacterias penetran en el tracto respiratorio superior por el aire durante la respiración, la mayor parte de ellas son atrapadas en los corredores nasales y expelidos nuevamente con las secreciones nasales, la faringe es uno de los lugares donde se ubica la mayor parte de microorganismos, puesto que las células linfoides, cuyo objetivo es secretar sustancias que hacen parte de la inmunidad humoral (mucus faríngeo), también hacen parte del estímulo de la respuesta inmune. Los organismos residentes que con más frecuencia se encuentran son los estafilococos, estreptococos, bacilos diftéricos y cocos Gram negativos, sin embargo, las bacterias potencialmente dañinas como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Corynebacterium diphtheriae* constituyen a menudo parte de la microbiota de la orofaringe de los individuos sanos⁶.

3.2 AGENTES PATOGENOS MÁS COMUNES EN ENFERMEDADES NOSOCOMIALES

La Familia *Micrococcaceae* se compone de tres géneros: *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Planococcus*.

En la actualidad el género *Staphylococcus* contiene 20 especies, 12 de las cuales se asocian con seres humanos, sin embargo solo algunos se han

⁶Especialidades de la segunda edición- Enfermedades Infecciosas. WWW. Index medico.com. p.9

aislado de infecciones humanas; Los restantes 8 se asocian con animales o productos relacionados a ellos.

Los estafilococos son cocos Gram positivos que se dividen en varios planos. Estos son resistentes a la desecación y pueden dispersarse a través del aire en partículas de polvo. En los seres humanos hay tres especies importantes: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus aureus*⁷.

3.2.1 *Staphylococcus epidermidis*. Este microorganismo hace parte de la flora normal del hombre encontrándose en conjuntivas y piel, sin embargo, en situaciones como inmunosupresión, enfermedades caquetizantes, diabetes, etc., éste microorganismo causaría severas infecciones que pueden ir desde cuadros de meningitis, endocarditis y septicemias, con el agravante de que este microorganismo es frecuentemente resistente a los antibióticos. El estudio bacteriológico es relativamente simple por cuanto el microorganismo crece bien en agar sangre y nutritivo, pero debe tenerse en cuenta para poder dar un valor diagnóstico a su hallazgo, la muestra debe ser tomada con antisepsia y el aislamiento sea repetido. El microorganismo crece bien sobre agar sangre desarrollando colonias circulares, convexas brillantes y de color blanco, están integradas por cocos Gram positivos, agrupados en racimo. El microorganismo es manitol negativo y coagulasa negativo.

Dado que este microorganismo es indistinguible del *Staphylococcus saprophyticus* es conveniente para poderlo distinguir, realizar una prueba de sensibilidad frente a un sensidisco de novobiocina, para lo cual sobre un medio de agar muller–hinton, se siembra con escobillón el microorganismo de la misma forma que para un antibiograma y se coloca el sensidisco ya mencionado, el *Staphylococcus epidermidis* es sensible a la novobiocina lo cual se evidencia por una inhibición alrededor del sensidisco de 5 mcg de novobiocina, el halo de inhibición es de 16 mm de diámetro. Ver figura 1.

⁷ KLOOS, We, *The prokaryotes; Handbook on habitats isolation, and identification of bacteria*. 4th ed. New York : springer-verlag. 1981. p 243-245

Figura 1. *Staphylococcus epidermidis* en agar sangre



Las infecciones por *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*; son asociadas con los dispositivos de uso intravascular (las válvulas de corazón y los catéteres) y derivaciones. También bastante común es la infecciones de suturas en las prótesis, las infecciones de las heridas, asociadas con osteomielitis, con cuerpos extraños y endocarditis⁸.

3.2.2 *Staphylococcus aureus*. “Es la más patógena de las especies de *Staphylococcus* encontradas en el ser humano, se trata de un microorganismo capaz de causar infección en cualquier parte del organismo”⁹.

El *Staphylococcus aureus* puede complicar la recuperación de infecciones virales como la influenza y llegar a ser causa de infecciones serias en huéspedes inmunosuprimidos, causando cuadros muy simples de piodermitis, como el orzuelo, hasta severos cuadros de septicemia a menudo fatales. Las muestras proceden de pus de abscesos, secreciones, heridas, sangre, etc. La muestra puede cultivarse directamente por agotamiento sobre agar sangre y se incuba a 37 grados centígrados¹⁰.

⁸ www.index.html91 KAISER, GE, *Manual de laboratorio*.

⁹ WALVOGEL, FA, *Principles and practice of infection diseases*. 2 ed. New York : John Willey6 & Sons, 1985. p 1097-1117

¹⁰ CARNEY, DN, *Bacteremia due to Staphylococcus aureus in patients whit cancer*. S.I. 1982. s.p.

Es recomendable hacer siempre una preparación para coloración de Gram. El exámen directo y coloración de Gram de las muestras, mostrará abundante cantidad de polimorfo nucleares neutrofilos y cocos Gram positivos agrupados como diplococos, tétradas o racimos. Sobre agar sangre el microorganismo crece bien originando una colonia circular de 2 a 3 mm con pigmentación amarilla, que da nombre a la especie de *aureus*. Ver figura 2.

Figura 2. *Staphylococcus aureus*



Los estafilococos son Catalasa positivo. Catalasa es la enzima que descompone el peróxido de hidrógeno. Se añade una gota de peróxido de hidrógeno a un cultivo denso y se busca burbujas de oxígeno.

Para diferenciar *Staphylococcus aureus*, se emplea la prueba de coagulasa ya que esta es una sustancia producida por *S.aureus* parecida a una enzima que hace que se coagule la fibrina y se forme un coágulo.

Prueba de la Coagulasa. Aunque esta prueba es muy simple, la investigación de la coagulasa es la prueba ideal, para ello se procedió así: En un tubo estéril se colocó 0.5 ml de un cultivo de 18 horas de incubación en plasma humano con EDTA, se mezcló e incubó a 37°C, y se observó cada 30 minutos hasta las cuatro horas para ver la formación del coagulo.

La producción de coagulasa esta generalmente asociada a la patogeneidad. Parece ser que la coagulación inducida por la coagulasa da como resultado un acumulo de fibrina en torno a las células bacterianas y las hace resistentes a la fagocitosis.

3.2.2.2 *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM). En la década del 60 emergió como patógeno nosocomial el *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM).

Luego de la introducción de la meticilina en Europa para el tratamiento de la infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*, rápidamente apareció resistencia a la misma. El *Staphylococcus aureus* se dispersó provocando inconvenientes en los procesos médicos, dificultades en el manejo de los pacientes infectados, confusión entre la enfermeras del control de infecciones (ECI), e incertidumbre en el manejo de los recursos para los administradores de los hospitales. Desde entonces el *Staphylococcus aureus* ha sido considerado un problema creciente en los centros de salud.

Se denomina SARM a las cepas que son resistentes a la meticilina, oxacilina, y naftcilina, también son resistentes a múltiples antibióticos incluyendo las betalactámicos, la clindamicina, eritromicina, la tetraciclina, y, algunas veces a los aminoglucósidos. Estas cepas pueden ser resistentes también a las quinolonas.

La importancia de éste patógeno radica en el riesgo potencial de transmisión nosocomial, la aparición de brotes epidémicos y el limitado número de antibióticos que pueden ser utilizados para el tratamiento de las infecciones causadas por éste microorganismo.

El *Staphylococcus aureus* coloniza la piel y mucosas en el hombre, y su localización más frecuente son las fosas nasales. El *Staphylococcus aureus* puede colonizar la piel, el tracto gastrointestinal y la nasofaringe

Las vías de transmisión más frecuentes para la mayor parte de las bacterias dentro del hospital, son las manos y SARM no es la excepción; por lo general se introduce a una institución cuando ingresa a ella un paciente infectado con éste germen, actuando entonces como reservorio.

Una vez que el microorganismo se ha instalado se transmite de un paciente a otro por medio de las manos del personal de salud, que se coloniza en forma transitoria luego del contacto con un paciente infectado o portador del germen o después de manipular material contaminado.

“La transmisión a través de objetos inanimados puede ser importante en poblaciones especiales como las de cuidados intensivos y la unidad de quemados, en elementos de contacto directo con el paciente, o a través de las manos del personal”¹¹.

“Otra de las enfermedades que *Staphylococcus aureus* produce, se denomina síndrome del shock tóxico; ésta enfermedad es causada por cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de toxinas que de manera típica afecta a las mujeres durante la menstruación¹². Los hombres también pueden verse afectados y constituyen cerca del 5% de los casos”¹³.

Este síndrome clínico se caracteriza por fiebre, hipotensión, mareos ortostáticos, eritrodermia descamativa (en palmas de manos y plantas de pie), y diversos grados de vómito, diarrea, cefalea, escalofríos etc. La causa terminal en la mayoría de los pacientes fue falla renal, hepática y/o cardiopulmonar¹⁴.

3.2.3 *Staphylococcus saprophyticus*. Las especies del género *Staphylococcus* son frecuentemente encontrados en la piel, mucosas nasales, en otras membranas mucosas y en algunos alimentos. Este estafilococo ocupa el segundo lugar después de *E.coli* como causante de cistitis. El microorganismo puede causar pielonefritis y uretritis asociados con el cateterismo.

La mayor parte de *S. saprophyticus* son resistentes a la novobiocina, es no hemolítico y coagulasa negativo; Mediante coloración de Gram se puede observar como un coco Gram positivo. Ver figura 3.

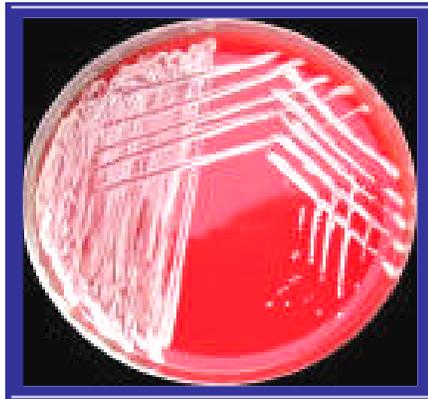
¹¹ PANIAGUA, Marisa, *Infección nosocomial producida por SARM*. Buenos Aires, 1999. s.p.

¹² . TODD, J. *Toxic Shock syndrome associated with phage group 1 staphylococci lancet*. New York, s.n. 1978. p 1116-1118

¹³ TOFTE, RW, *Toxic shock syndrome. Evidence of a broad clinical spectrum*. Madrid, JAMA. 1981. p 2163-2167

¹⁴ *Ibíd.*, p.2163-2167

Figura 3. *Staphylococcus saprophyticus*



Las infecciones hospitalarias con estos estafilococos resistentes a los antibióticos ocurren con frecuencia en pacientes cuya resistencia a la infección está diseminada debido a otras enfermedades, intervenciones quirúrgicas ó una terapia con diversos medicamentos.

Estos pacientes adquieren las células estafilocócicas del personal hospitalario, que con frecuencia son portadores normales de cepas resistentes a los antibióticos.

El control de estas epidemias hospitalarias exige una cuidadosa atención al mantenimiento de la asepsia¹⁵.

¹⁵ MADIGAN, Op. Cit. p.695-697

Cuadro 1. Miembros del género *Staphylococcus* encontrados en los seres Humanos y en algunos animales.

Especies encontradas en seres humanos y animales	Especies encontradas sólo en animales y productos relacionados.
<p>Coagulasa Positivo: <i>Staphylococcus aureus</i>. Coagulasa Negativo: <i>Staphylococcus epidermidis</i>. <i>Staphylococcus saprophyticus</i>. <i>Staphylococcus hominis</i>. <i>Staphylococcus hemolyticus</i>. <i>Staphylococcus warneri</i>. <i>Staphylococcus capitis</i>. <i>Staphylococcus saccharolyticus</i>. <i>Staphylococcus auricularis</i>. <i>Staphylococcus simulans</i>. <i>Staphylococcus cohnii</i>. <i>Staphylococcus xylosus</i>.</p>	<p>Coagulasa Negativo: <i>Staphylococcus intermedius</i>: Gatos y perros. <i>Staphylococcus caprae</i>: Cabras (leche). <i>Staphylococcus lentus</i>: Ovejas. <i>Staphylococcus hycus</i>: Ganado y cerdos. <i>Staphylococcus gallinarum</i>: Avez de corral. <i>Staphylococcus caseolyticus</i>: Vacas y productos lácteos. <i>Staphylococcus carnosus</i>: Carnes procesados y carne vacuna.</p>

Fuente: Koneman. Diagnostico microbiológico

3.2.4 *Cándida sp.* Las especies de cándida son únicas entre las levaduras asociadas con enfermedades humanas porque en las secreciones y secciones de tejidos forman brotes de levaduras e hifas. Todas las levaduras del género *Cándida* poseen características macro y microscópicas semejantes.

Crecen bien en medios bacteriológicos (agar sangre), medios simples y micológicos, tanto a 37° C como a temperatura ambiente.

Las colonias son cremosas, blanquecinas, brillantes y están formadas por estructuras unicelulares pequeñas (4-6 micras), las blastoconidias¹⁶.

¹⁶ HARRISON, A, *Principios de medicina Interna*. 14ª ed. Madrid : Mc Graw-Hill Interamericana, 1998. p 1077

3.2.4.1 *Cándida albicans.* Es la especie de levadura cultivada con mayor frecuencia de las muestras clínicas. La demostración de colonias en forma de araña en agar EMB es un método aceptable para identificarla. Sin embargo la prueba del tubo germinal se emplea en la mayor parte de los laboratorios. Un tubo germinal se define como la extensión filamentosa de una célula de levadura que mide alrededor de la mitad del ancho y de 3 a 4 veces el largo de la célula. El tubo de *Cándida albicans* es un punto sin constricción en el punto de origen.

Prueba del tubo germinal: Se suspende una pequeña porción de la colonia aislada de la levadura en un tubo de prueba con 0.5 ml de suero humano, se incuba el tubo de prueba a 37 grados por 2 horas.

“Se coloca una gota de la suspensión suero- levadura en un porta objeto y se pone el cubre objeto, examinando con el microscopio en busca de los tubos germinales. La prueba no es valida si se hace después de 2 horas”¹⁷.

Las Enterobacteriaceas son bacilos Gram negativos no esporulados, móviles ó inmóviles por flagelación períttrica, aerobios facultativos.

Son oxidasa negativos. Para los humanos hay algunas cepas patógenas, siendo la mas reconocida *Escherichia coli*, habitante casi universal del tracto intestinal. *Escherichia* causa infecciones del tracto urinario en pacientes de edad avanzada ó en aquellos cuya resistencia se halla debilitada por tratamientos quirúrgicos ó por la exposición a radiación ionizante¹⁸.

3.2.5 *Serratia marcescens.* *Serratia* como otras, crecen bien en los medios ordinarios bajo condiciones aerobias y anaerobias. Crecen bien en los medios que usan varios compuestos como única fuente de carbono. Su crecimiento óptimo está a 20 -37 grados centígrados y a un pH de 9, mientras se inhibe su crecimiento a una temperatura de más de 45° C y un pH de 4.5.

Este microorganismo se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y es la única especie de *Serratia* que se ha aislado con cierta frecuencia de

¹⁷ KONEMAN, Diagnostico Microbiológico. 3ª ed. New York : 1998. p 222-234

¹⁸ MADIGAN, op. Cit. p. 787-789

pacientes hospitalizados. Presentan un pigmento muy especial insoluble en agua llamado Prodigiosina (2- metil-3-amil-6-metoxiprodigioseno), que solo 6 biotipos de *S marcescens* lo producen, sin embargo son los representantes no pigmentados los que más relacionados están con las complicaciones en la recuperación del paciente¹⁹ . Ver figura 4.

Figura 4. *Serratia marcescens* en agar McConkey



“Algunas cepas pueden crecer bien a pH 5 mientras que otras a éste mismo pH exigen un periodo más prolongado de incubación para poder observarse su crecimiento. Se ha evidenciado también crecimiento inconstante a 5°C y 40°C”²⁰ .

Es el género más importante del género *Serratia* y se asocia con una variedad de infecciones humanas en particular neumonía y septicemia en pacientes con neoplasias reticuloendoteliales que reciben agentes quimioterapeúticos. Presenta propiedades invasoras y una tendencia a resistir muchos de los antibióticos comunes, puede ser un oportunista hospitalario de importancia como por ejemplo en casos de meningitis.

S. marcescens se ha usado como marcador biológico para estudiar la transmisión de microorganismos, hasta los años 50, ésta bacteria fue

¹⁹ SCHERING CORPORATION, USA. Guía de laboratorios para la identificación bacteriana. *Serratia* sp. SCHERING CORPORATION, USA. s.p.

²⁰ www.medline.com EL VON DE A, El género *Serratia*. Florida, 1993. p 3

considerada generalmente un saprofito indemne. Solo desde los años 60 fue reconocido como un patógeno humano oportunista.

Las erupciones de *S. marcescens* producen meningitis, infecciones en heridas, artritis, endocarditis y osteomielitis.

Se informan casos de artritis como resultado de la infección de *serratia* en enfermos ambulatorios que han recibido inyecciones interarticulares²¹.

3.2.5.1 *Serratia liquefaciens.* (*Serratia proteamaculans*, *Enterobacter liquefaciens*) Se diferencia de *S. marcescens* por su habilidad para fermentar la L-arabinosa y el hecho de que ninguno de los miembros de ésta especie produce pigmento. Normalmente se recupera de fuentes del medio ambiente, incluyendo agua, plantas, insectos y alimentos. Es mas rara que *S marcescens* en especies humanas pero puede establecerse como bacteria nosocomial con patrones de resistencia antimicrobiana reminiscentes de *S marcescens*.

Se ha aislado muy frecuentemente de cultivos de sangre. La significancia clínica de *S. liquefaciens* es su patogenicidad potencial en pacientes inmunocomprometidos.

3.2.5.2 *Serratia odorífera.* Así llamada debido a su olor acre parecido al de vegetales aplastados o hierba mohosa. Este microorganismo rara vez se ha recuperado a partir de materiales clínicos y no se ha atribuido papel definitivo en cuanto a producir enfermedades o complicaciones.

La determinación de la susceptibilidad de *serratia* a los antibióticos se hace individualmente en el laboratorio, ya que cada cultivo puede mostrar su propio espectro de resistencia. Generalmente las cepas de *serratia* son resistentes a penicilinas, tetraciclinas, así como a las cefalosporinas, las cuales son eficaces contra ciertas cepas²².

²¹ www.medline.com FERNANDEZ, Alonso, *El genero Serratia*. España : s.n. 1994. p 294-299

²² SCHERING, *Op. Cit.* s. p.

3.2.6 *Klebsiella sp.* Este género fue denominado así por Edwin Klebs, microbiólogo alemán y luego descrito por Carl Friedlander, y durante muchos años el “Bacilo de Friedlander” fue muy bien conocido como causante de neumonías muy graves y a menudo fatales.

Debe sospecharse especies de *klebsiella* cuando se recuperan grandes colonias con una consistencia mucóide en medio de aislamientos primarios.

En agar McConkey de forma típica las colonias son grandes, mucóides y rojas, habitualmente con la difusión del pigmento rojo hacia el agar circundante, lo que indica fermentación de lactosa y producción de ácidos²³.

Las infecciones con los organismos de *Klebsiella* ocurren en los pulmones donde ellos causan cambios destructivos. La inflamación, hemorragia y necrosis ocurren dentro del tejido pulmonar produciendo un esputo espeso con sangre. La enfermedad afecta a los hombres de mediana edad y más viejos especialmente aquellos con enfermedades debilitantes como el alcoholismo, diabetes ó enfermedades broncopulmonares crónicas.

Los microorganismos entran en el cuerpo después de que el hospedador aspira, colonizando los microbios la zona orofaríngea del tracto respiratorio bajo. Ver figura 5.

Figura 5. *Klebsiella sp* en agar McConkey



²³ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, Subdirección de epidemiología. Santafe de Bogotá : INS, 2002. p. 9

Se ha incriminado a *Klebsiella* en las infecciones nosocomiales. Los sitios comunes incluyen el tracto urinario, tracto respiratorio bajo, tracto biliar y los sitios de heridas quirúrgicas.

“El uso de catéteres urinarios y el uso de antibióticos son factores que aumentan la probabilidad de infección nosocomial con especies de *klebsiella*”²⁴.

3.2.6.1 *Klebsiella pneumoniae*. Se halla poco, a menudo en la orofaringe de las personas normales, sin embargo es posible hallar prevalencia de hasta un 20 % en pacientes internados.

Es responsable para la mayoría de las infecciones humanas. Este es un patógeno oportunista encontrado en el ambiente y en las mucosas de los mamíferos. Los depósitos del patógeno son el tracto gastrointestinal de pacientes y las manos del personal del hospital; estos pueden extenderse rápidamente produciendo a menudo erupciones nosocomiales.

3.2.6.2 *Klebsiella ozaenae*. Es un aislamiento infrecuente asociado con rinitis atrófica, una condición denominada ozena e infecciones purulentas de la membrana de la mucosa nasal.

3.2.6.3 *Klebsiella rhinoscleromatis*. Causa la enfermedad granulomatosa rinoscleroma, infección de la mucosa respiratoria, la orofaringe, la nariz y los senos paranasales.

“El rinoscleroma es un proceso inflamatorio crónico que involucra la nasofaringe, considerando la ozena es una rinitis atrófica crónica caracterizada por la necrosis de la mucosa nasal y descarga nasal mucopurulenta”²⁵.

²⁴ **EINSTEIN, B. Enterobacteriaceae. 5th ed. New York : s.n. 2000. v.2, p. 294-310**

²⁵ Ibid, 294-310

3.2.6.4 *Klebsiella oxytoca*. Se ha implicado en bacteremia neonatal, sobre todo en los infantes prematuros y en las unidades de cuidados intensivos. Cada vez más, el organismo se está aislando de los pacientes con septicemia neonatal.

El intestino es el sitio de mayor colonización con la infección del tracto urinario, tracto respiratorio y heridas. La bacteremia y la mortalidad han aumentado significativamente como resultado de la infección con estas especies. Los factores de riesgo para la infección incluyen la presencia de un catéter venoso central, mal estado de salud y tratamiento en una unidad de cuidados intensivo.

La adquisición de estas especies se ha vuelto un problema mayor en los hospitales debido a la resistencia a los antibióticos múltiples²⁶.

3.2.7 *Citrobacter sp:* Microorganismo bastante fuerte como para sobrevivir en diferentes ambientes hospitalarios. Es un bacilo enterico Gram negativo perteneciente a la familia de las *Enterobacteriaceae*, carece de capacidad para formar esporas, pueden crecer de forma aerobia o anaerobia, es decir son anaerobios facultativos, pueden fermentar la glucosa a ácido, son oxidasa negativos y presentan un grado variable de motilidad que depende de la presencia o ausencia de flagelos. Ver figura 6.

Figura 6. *Citrobacter freundii*



²⁶ Ibid, 294-310

Puede presentar infecciones oportunistas graves si el hospedero debilitado no es capaz de iniciar una respuesta inmunitaria normal. Además, las bacterias en el ambiente hospitalario cargado de antimicrobianos son preseleccionadas por su resistencia a los fármacos y pueden ser especialmente difíciles de tratar²⁷.

3.2.8 *Enterobacter sp.* Tiene las características generales de *Klebsiella* pero puede diferenciarse de muchas especies de *Klebsiella* porque estas especies son móviles y ornitina positivas. Son patógenos oportunistas en ambientes hospitalarios y se asocian a infecciones en quemaduras, heridas quirúrgicas, infecciones respiratorias y urinarias²⁸.

3.2.8.1 *Enterobacter aerogenes* y *E. cloacae*. Especies halladas en muestras clínicas. Distribuidas en aguas, suelos y vegetales. Forman parte de la flora entérica comensal y no se cree que causen diarrea. También se asocian con una variedad de infecciones oportunistas que afectan las vías urinarias, respiratorias y las heridas cutáneas y en ocasiones causa septicemia y meningitis.

3.2.8.2 *Enterobacter sakazakii*. Es un bacilo Gram negativo dentro de la familia Enterobacteriaceae, perteneciente al género *Enterobacter*. Originalmente el microorganismo se llamó "*Enterobacter cloacae-amarillo pigmentario*" pero solo hasta 1980 fue renombrado como *Enterobacter sakazakii*.

Urmenyi y Franklin informaron los dos primeros casos conocidos de meningitis causados por este microorganismo en 1961. Se han informado a nivel mundial casos de meningitis, septicemia y enterocolitis necrotizante debido a *Enterobacter sakazakii*, la mayoría de documentos involucran a infantes pero también hay informes que describen infecciones en adultos. Las proporciones de caso- fatalidad han variado considerablemente llegando hasta un 80% en algunos casos, lo que indica que es un microorganismo en extremo virulento y debe reconocerse en los laboratorios clínicos. El pigmento amarillo y la naturaleza dura de las colonias son los primeros indicios de su presencia²⁹.

²⁷ Harrison, Op. cit., p.1077

²⁸ RESTREPO, A, fundamentos de medicina: Enfermedades infecciosas. 5ª ed. Medellín : Corporación para investigaciones biológicas CIB, 1996. p 425-427

²⁹ URMENYI, La muerte de neonatos por infecciones de coliformes pigmentarios. Madrid : s.n. 1961. p 313-315

3.2.8.3 *Enterobacter agglomerans*. También puede producir pigmento amarillo habitualmente menos intenso, pero a menudo solo después de una incubación prolongada a temperatura ambiente. Es responsable éste microorganismo de brotes de septicemia causado por líquidos intravenosos contaminados.

3.2.8.4 *Enterobacter gergoviae*. Causa infecciones urinarias y se han recuperado aislamientos adicionales de vías respiratorias y sangre.

3.2.9 *Hafnia alvei*. Pertenece a la familia de las enterobacteriaceas, siendo ésta la única especie. La nomenclatura de *Hafnia* fue propuesta por Moller en 1954, basándose en la evolución y dándoles el nombre de "*Enterobacter alvei*" ó "*Hafnia de Enterobacter*"; nombrándola incluso como una subespecie de "*Enterobacter aerogenes*, subespecie *Hafniae*".

Los resultados de hibridación de ADN-ADN demuestran la existencia de dos genoma especies dentro de la taxa de *Hafnia alvei* sin embargo como es imposible distinguirlos por sus caracteres fenotípicos éstas dos genoma especies conservan el nombre de *Hafnia alvei*.

Según Richard y Alonso:

Las actividades fisiológicas, enzimáticas y metabólicas de *Hafnia alvei* varían de acuerdo a la temperatura de incubación aumentando de 22° a 37° C

Hafnia alvei es una enterobacteria móvil a 22°C pero inmóvil a 37°C, presentando una reacción de Voges Proskauer positiva a los 22°C pero negativa a los 37°C, mientras no use el citrato de Simmons como única fuente de carbono y energía, además no produce Indol.

En agar sangre, medio BCP, (agar lactosa de bromocresol carmesí), medio de EMB (Eosina azul de metileno), agar salmonella-shigella y agar McConkey las colonias de *Hafnia* se asemejan a las de salmonellas con la excepción de la producción de H₂S.

El hábitat de *Hafnia* es la tierra y el agua, pero también se puede aislar de coprocultivos, muestras de faringe, pus, expectoraciones, hemocultivos, líquidos biliares y gástricos, al igual que en alimentos como el queso, la miel, salchichas, jamones y sardinas.

Hafnia alvei puede comportarse como un patógeno oportunista pero rara vez se aísla de un ambiente hospitalario pero se asocia con otras bacterias, para producir septicemias, gastroenteritis, pulmonías, abscesos, infecciones urinarias y daño en las heridas³⁰.

3.2.10 *Proteus* sp. “Género hallado en suelo, agua y materiales contaminados con heces. La mayoría de las infecciones son causadas por *P. mirabilis*, de las cuales la infección urinaria es la más frecuente, siguiendo en importancia las infecciones de heridas, neumonías y septicemias”³¹.

3.2.10.1 *Proteus mirabilis*. Es la especie más frecuente recuperada de humanos en particular como agente causal de infecciones urinarias y de heridas, es la única especie que no produce Indol, característica útil para efectuar una rápida identificación. Todas las cepas de ésta especie son sensibles a la ampicilina y cefalosporinas.

3.2.10.2 *Proteus vulgaris*. Es un anaerobio facultativo, Gram negativo, que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*. El flagelo peritrico de *P. vulgaris*, contribuye a su activa motilidad. Es un microorganismo que crece mejor a 37°C, pero puede crecer a las temperaturas de 20 a 40°C. Bajo condiciones normales, tiene una relación de comensalismo con su hospedador, exceptuando en el caso de bebés cuando puede causar la diarrea infantil. El tracto intestinal sirve como depósito; sin embargo, cuando se introduce en el tracto urinario, *P.vulgaris* puede causar infección. También puede vivir libremente en comida, agua y tierra³².

Las señales comunes de infección del tracto urinario son la fiebre, orina turbia, orina alcalina y sensación urgente de miccionar. *P. vulgaris* entra en el tracto intestinal debido a la ingestión de comidas contaminadas ó aguas, y se extiende al tracto urinario debido a los defectuosos métodos de limpieza después de la defecación.

³⁰ GRANJERO, *Enterobacteriaceae*. Washington, 1999. p 442- 458

³¹ RESTREPO, *Op. cit.*, p. 425-427

³² GUPTA, P.K, *Lactobacillus acidophylus* contra patógenos diferentes en la leche, En : Ciencia y tecnología de la comida, España. Vol. 33. (1992). p 147-149

“Este es un microorganismo susceptible a muchos antibióticos, como las cefalosporinas y fluoroquinolonas, como la ciprofloxacina u ofloxacina, que se encuentran dentro de los antibióticos eficaces. La prevención depende de una buena higiene sobre todo del área rectal y de las manos, especialmente en las mujeres porque la uretra esta cerca del ano”³³.

3.2.11 *Pseudomonas sp.* Los miembros del género *Pseudomonas* se hallan distribuidos ampliamente en la naturaleza, colonizando la mayoría de los medios ambientes húmedos y acuáticos, aerobios³⁴. Son bacilos Gram negativos, aerobios que no forman esporas, la mayoría de ellas son móviles debido a la presencia de uno o varios flagelos polares, son catalasa positivos y casi todos son oxidasa positivos. Su temperatura óptima de crecimiento está entre los 30°C a 37°C. La mayoría de los miembros del género no proliferan en ambientes ácidos. Crece bien en agar sangre y agar McConkey. Las infecciones causadas por estos microorganismos son por lo general oportunistas. El patógeno humano de mayor importancia es *P. aeruginosa*³⁵.

3.2.11.1 *Pseudomonas aeruginosa.* “Se caracteriza por presentar un derivado azul de fenacina, llamado piocianina, este es el pigmento más soluble en agua entre los varios pigmentos de fenacina producidos por *pseudomona* productoras y no productoras de fluoresceína, además presentan un olor como de uvas. Aeruginosina, un pigmento rojo soluble en agua, también es producido por ciertas cepas de *P. Aeruginosa*”³⁶. Ver figura 7.

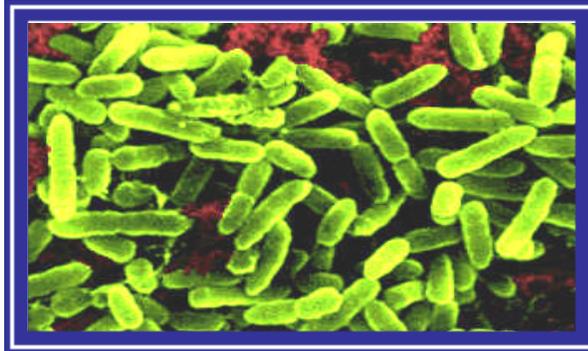
³³ EL SEMIFALLO, PAUL, *La introducción a las bacterias*. New York, 1997. p 25

SCHERING CORPORATION USA. *Guía de laboratorios para identificación bacteriana. Pseudomona sp*
SCHERING CORPORATION USA.

³⁵ . RESTREPO, *Op. cit.*, p. 425-427

³⁶ SCHERING. *Op. cit.* s. p.

Figura 7. *Pseudomonas* sp.



P. aeruginosa se presenta mediante tinción de Gram como bacilos Gram negativos rectos o levemente curvos y aerobios estrictos. Es la pseudomona recuperada con más frecuencia de muestras clínicas. Las infecciones ocurren en cualquier sitio donde tiende a acumularse humedad: Traqueostomias, catéteres, sondas, quemaduras, etc... También causa infecciones urinarias y respiratorias bajas; éstas pueden ser graves e incluso potencialmente letales en huéspedes inmunocomprometidos. Se han propuesto varios mecanismos por los cuales las *Pseudomonas* afectan al huésped. *P. aeruginosa* produce enzimas extrabacterianas que causan lesiones hemorrágicas en animales, pero que pueden no tener consecuencias clínicas.

Se trata de una bacteria capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustrato para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos en los que son escasos los nutrientes que otros organismos pueden asimilar. Se ha reportado el aislamiento de esta bacteria de ambientes tan inhóspitos como son el combustible de avión, soluciones de clorhexidina y el jabón.

Todos nosotros estamos en contacto diariamente con *P. aeruginosa*, ya que éste se encuentra en bajas cantidades en nuestros alimentos y en algunos artículos de limpieza. Se obtienen aislamientos de esta bacteria de las heces de personas sanas, lo que nos muestra que nuestro contacto con esta bacteria es cotidiano y solo representa una amenaza para nuestra salud en condiciones especiales.

Pseudomonas aeruginosa representa un problema de salud en centros hospitalarios, cuando se trata de pacientes con cáncer o quemados. Una vez establecida la infección se produce una serie de compuestos tóxicos que

causan no solo daño tisular extenso sino que también interfiere con el funcionamiento del sistema inmune.

Esta bacteria presenta una alta resistencia natural a distintos antibióticos y desinfectantes³⁷.

3.2.11.2 *Pseudomonas maltophilia*. “En la actualidad se le ha modificado la taxonomía al género *Pseudomona*. Esta especie se llama ahora *Stenotrophomonas maltophilia*. Es el siguiente aislamiento más frecuentemente hallado, presenta oxidasa negativo”³⁸.

3.2.11.3 *Pseudomonas pseudomallei*. Su nombre se ha cambiado por *Burkholderia pseudomallei*³⁹. Causa melioidosis, enfermedad similar al muermo en animales y humano. El ser humano se infecta a través de soluciones de continuidad en la piel o por inhalación de agua o suelos infectados. Tienen versatilidad en el tipo y número de compuestos orgánicos utilizados como única fuente de carbón y energía. Resistentes a antibióticos polimixinas.

3.2.12 *Moraxella catharralis*. Las especies de *Neisseria* y *Branhamella catharralis* junto con los géneros: *Moraxella*, *Kingella* y *Acinetobacter* pertenecen a la familia *Neisseriaceae*. La posición taxonómica de *B. catharralis* no es clara y existen 2 propuestas: una que sea asignada al género *Moraxella* dentro de la familia *Moraxellaceae*; y el otro es el propio género *Branhamella* dentro de la familia *Brahamaceae*.

M. catharralis produce oxidasa y catalasa positiva. Esta bacteria es parte de la flora del tracto respiratorio superior y se ha asociado con diversos procesos patológicos. Puede desempeñar papel en la bronquitis aguda y en exacerbaciones de la bronquitis. El microorganismo también está implicado en la sinusitis maxilar, meningitis, endocarditis, conjuntivitis, otitis media y neumonía⁴⁰.

³⁷ SOBERON, Gloria, Instituto de Biotecnología. México : Universidad Autónoma de México. 1998. s.p.

³⁸ RESTREPO, Op. cit. p. 425-427

³⁹ Ibid, p. 425-427

⁴⁰ JAWETS, Microbiología médica. 3ª Ed. México : Interamericana. 1995. V. 2. p 256

Crece bien en agar sangre, las colonias son grises a blancas, lisas y opacas. En preparaciones con tinción de Gram el microorganismo aparece como diplococos Gram negativos, se recuperan fácilmente a partir de agar sangre, y una característica es que las colonias se desprenden fácilmente al removerlas con el asa bacteriológica. Es susceptible a eritromicina, tetraciclina, cloranfenicol y trimetoprin sulfa⁴¹.

3.3 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

3.3.1 Agar Hierro tres azúcares (TSI)

Forma de actuación. En este medio se observa la capacidad del germen para fermentar la Lactosa, sacarosa y glucosa, con la actuación de ácido ó de ácido y gas. La degradación de productos con actuación de ácido se manifestará por un cambio de color del indicador Rojo de producto que de anaranjado-rojizo a amarillo, o por un viraje a rojo intenso en caso de alcalinización.

El tiosulfato es reducido por algunos productos a ácido sulfhídrico (H₂S), el cual reaccionará con la sal férrica produciendo sulfuro de hierro de color negro.

Microorganismos que identifica: *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*; *Citrobacter*, *Klebsiella*, *K. Pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* entre otros.

3.3.2 Agar lisina- hierro (LIA). Agar de ensayo para la demostración simultanea de lisinadescarboxilasa (LD) y de la formación de ácido sulfhídrico (H₂S) para la identificación de Enterobacterias como Salmonellas. El Agar Lisina Hierro es ventajoso, ante medios de cultivo comparables, en la diferenciación de Proteus frente a Salmonella.

Forma de actuación. La Lisina puede ser descarboxilada por microorganismos LD- positivos, que la transforman en la amina cadaverina. Esto produce un viraje al violeta del indicador de pH púrpura de bromocresol, puesto que la descarboxilacion solo tiene lugar en medio ácido (pH inferior 6.0), es necesario que se produzca previamente la acidificación del medio de

⁴¹ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, Op. Cit. p.12-13

cultivo, por fermentación de la glucosa. Por este motivo, este medio de cultivo solo puede utilizarse para la diferenciación de cultivos que fermentan la glucosa.

Los microorganismos LD-negativos, pero fermentadores de glucosa, producen un viraje al amarillo de la totalidad del medio de cultivo. La incubación prolongada puede ocasionar una alcalinización en la zona de la superficie del medio de cultivo y en consecuencia, se produce un viraje al violeta. La formación de H₂S produce una coloración negra debida al sulfuro de hierro producido.

Microorganismos que identifica: *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*.

3.3.3 Agar citrato Simmons. Agar de ensayo totalmente sintético, para la identificación de microorganismos, especialmente de Enterobacteriaceas y ciertos hongos, basado en el empleo de citrato como única fuente de carbono.

Forma de actuación. La degradación del citrato por los microorganismos da lugar a una alcalinización del medio de cultivo, lo que se manifiesta por un viraje a azul oscuro del indicador de pH azul de bromotimol.

Microorganismos que identifica: Citrato – Positivos: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Salmonella enteritidis*.

Citrato – Negativos: Shigella, Escherichia, Salmonella typhi y otros.

3.4 CALDO MR- VP (CALDO ROJO DE METILO Y VOGES PROSKAUER)

Medio de cultivo de ensayo para la realización de la prueba del rojo de metilo y del ensayo de Voges Proskauer para la diferenciación bioquímica, especialmente dentro del grupo Coli- Aerogenes.

Con la prueba de rojo de metilo se determina la capacidad del microorganismo de producir y mantener estables los productos ácidos de la fermentación de la glucosa.

Con la prueba de Voges Proskauer se determina la capacidad de algunos microorganismos de producir una sustancia final neutra, el acetil metil carbinol (acetoina), a partir de la fermentación de la glucosa.

3.4.1 Forma de actuación. algunas bacterias utilizan glucosa con gran formación de ácido, de forma que el valor del pH del medio desciende a menos de 4.4. Otras bacterias producen menos ácido reduciendo en menor medida el pH del medio. Esta distinción puede hacerse visible a través del rojo de metilo, que presenta color amarillo por encima de un pH de 5.1 y solo presenta color rojo cuando el pH desciende a 4.4.

3.5 MEDIO DE CULTIVO SIM

Medio de cultivo de ensayo para comprobar la formación de sulfuro, la formación de Indol y la motilidad, en el marco del diagnóstico de enterobacteriaceas.

La motilidad se pone de manifiesto por la turbidez difusa del medio de cultivo alrededor del canal de la picadura. La no motilidad se caracteriza por el crecimiento producido exclusivamente a lo largo de dicho canal. La formación de H₂S se reconoce por el ennegrecimiento de la zona de crecimiento.

PRUEBA DE INDOL:

La prueba de indol determinó la capacidad del microorganismo para producir Indol, que es un producto de degradación en el metabolismo del triptófano. La bacteria que posee la enzima triptofanasa desdobló el triptófano produciendo indol, ácido pirúvico y amoníaco.

3.6 UREA DE CHRISTENSEN

Si la bacteria posee la enzima ureasa, hidroliza la urea del medio liberando amonio y CO₂. El indicador utilizado es el rojo de fenol. Se sembró en superficie con estría.

3.7 AGAR MANITOL-SAL COMÚN- ROJO DE FENOL

Agar selectivo para la demostración de estafilococos patógenos en alimentos y otros materiales objeto de estudio.

3.7.1 Forma de actuación. Debido a la concentración extremadamente alta de sal, permite solamente el crecimiento de microorganismos tolerantes a ella, entre los que se encuentran, entre otros, los del género *Staphylococcus*. La degradación del manitol con formación de ácido, esta notablemente correlacionada con la patogeneidad del germen en cuestión y sirve, por lo tanto como indicativo de la presencia de *Staphylococcus aureus*.

3.8 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN

3.8.1 Coloración de Gram. La coloración de Gram es una coloración compuesta y fue descubierta hace más de 100 años por Hans Christian Gram, permite en la mayoría de los casos, establecer un diagnóstico presuntivo sobre la base de los siguientes aspectos:

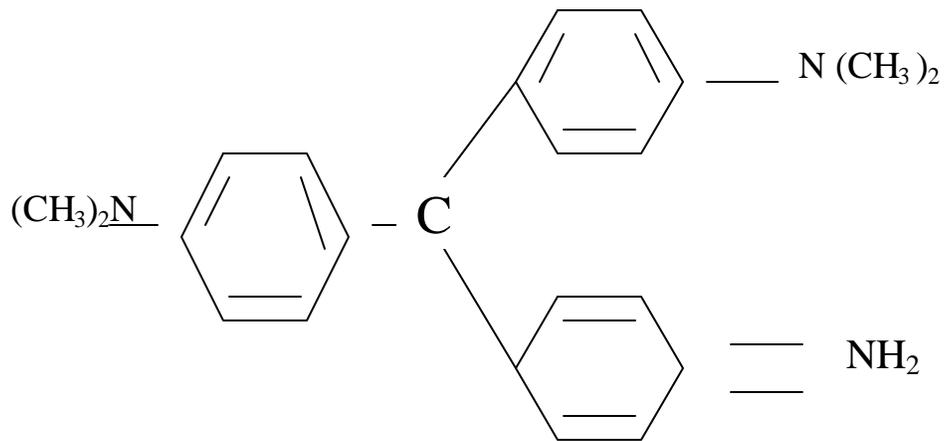
- Morfología celular ,Característica tintorial, Agrupación celular

La coloración tiene una estandarización internacional y sus componentes así como sus reacciones y los tiempos para las mismas no pueden ser variados.

3.8.2 Elementos usados en el proceso de tinción

1. El Cristal violeta: Es una tinción diferencial usada para demostrar las propiedades tintoriales de todos los tipos de bacterias. Ver figura 8.

Figura 8. Cristal violeta (hexametilpararosanilina)

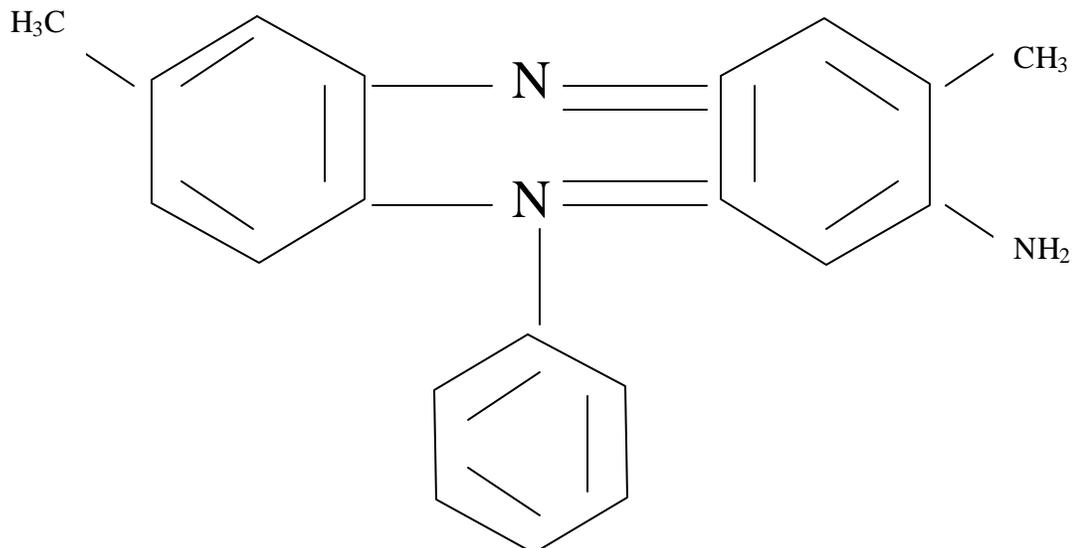


2. Yodo de Gram: Las bacterias Gram positivas retienen el colorante de cristal violeta después de la decoloración y se ven de color azul oscuro.

3. Decolorante: Las bacterias Gram negativas no son capaces de retener el cristal violeta, después de la decoloración y se contrañen de color rojo usando safranina. Ver figura 9.

4. Contra tinción: Las características tintoriales pueden ser atípicas en cultivos jóvenes, viejos, muertos o degenerados.

Figura 9. Dimetil fenosafranina



3.8.3 Procedimiento. El material de estudio fueron colonias aisladas a partir de las secreciones orofaríngeas, al igual que de palmas de manos y de un cultivo bacteriano puro. La muestra se tomó con un asa bacteriológica de argolla emulsionándola posteriormente con solución acuosa; luego se procedió de la siguiente manera:

Sobre un portaobjetos limpio y desengrasado se extendió en forma circular formando una película muy fina de 10 a 20 mm de diámetro.

- Se dejó secar a temperatura ambiente.
- Se fijó la preparación 3-5 veces por la llama del mechero.
- Se cubrió la preparación con una solución de cristal de violeta y se deja actuar por un minuto.
- Se retiró el exceso de colorante y se lavó con agua corriente.
- Se cubrió la preparación con una solución de Lugol y se dejó por un minuto.
- Se removió el exceso de solución y se lavó con agua.
- Se procedió a lavar utilizando para ello alcohol etílico al 95% hasta que la placa no suelte ningún color violeta, normalmente este proceso dura de 10 a 15 segundos.
- Se lavó la preparación con agua corriente.
- Se cubrió la preparación con una solución de safranina y se dejó actuar por treinta segundos.
- Se lavó la preparación con agua corriente.
- Se secó la preparación dejándola a temperatura ambiente. Se examinó la preparación al microscopio con el objetivo 100x y aceite de inmersión. La preparación se recorrió cuidadosamente detallando la morfología bacteriana, característica tintorial, agrupación y cualquier otro detalle llamativo⁴².

⁴² MICROBIOLOGIA MÉDICA, Manual de procedimientos Instituto nacional de salud. Santafe de Bogotá, ISN. 1990. ISBN-958-13-0027-9 s. p.

3.9 PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS

3.9.1 Prueba de la Catalasa. La enzima descompone el peroxido de hidrogeno, se añadió una gota de peroxido de hidrogeno a un cultivo denso; la observación de burbujas se tomó como prueba positiva.

La presencia de Catalasa se observó por la activa liberación del O₂ del H₂O₂.

Reacción química:



Identificación más frecuente:

Bacillus +

Streptococcus –

Staphylococcus +

3.9.2 Prueba de la Oxidasa. La prueba es muy útil para evaluar colonias que se sospecha que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (todas negativas) y para identificar colonias que se sospecha que pertenecen a otros géneros como: *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Campylobacter*, etc.

3.9.3 Medios y Reactivos. Clorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina, Clorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina, discos y reactivos comerciales.

En el procedimiento se utilizó una tira de papel filtro, sobre la cual se agregó unas pocas gotas del reactivo (Clorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina). Se dispersó un asa de la colonia sospechosa en la zona del papel de filtro con reactivo.

Las colonias bacterianas que tienen actividad de citocromo oxidasa desarrollaron un color azul oscuro en el sitio de inoculación en diez segundos. Cualquier microorganismo que produzca un color azul en el lapso de 10 a 60 segundos debe evaluarse aun más porque probablemente no pertenezca a la familia *Enterobacteriaceae*⁴³.

⁴³ ROMEO, *Microbiología y parasitología humana. México, s.f. p 702*

Deben usarse como controles especies bacterianas con reacciones positivas y negativas. Pueden sugerirse:

- Control positivo: *Pseudomonas aeruginosa*
- Control negativo: *Escherichia coli*

3.10 CARACTERISTICAS DE LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL DEPARTAMENTAL DE NARIÑO

La unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Departamental de Nariño, como otras tantas del país, no cumple con algunas de las normas de seguridad e higiene. Fue creada para una población pequeña pero cuya demanda ha ido en aumento en el transcurso de los años, desarrollando un ambiente de hacinamiento. Teniendo en cuenta que dentro de ésta unidad, encontramos cinco camas que están separadas por escasos dos metros de distancia entre ellas, la contaminación es muy probable debido a que la mayoría de los pacientes se encuentran inmunodeprimidos.

Anteriormente se fumigaba el recinto con productos muy tóxicos, por lo que se prohibía el acceso a esta unidad durante dos días; hoy en día la desinfección de la unidad se hace sin problemas y en aproximadamente dos horas ya puede volver a ser utilizada esta zona; sin embargo los medios con que se trabaja en el hospital son mínimos a causa del problema económico que esta entidad posee; Las enfermeras toman las precauciones necesarias como el uso de guantes ya que se trabaja mucho con pacientes de quien no se sabe que otras infecciones puedan tener. Además se manipulan muchas secreciones, sangre y fluidos que son potencialmente peligrosos para estos profesionales de la salud.

Por lo tanto los accidentes dentro de la unidad aunque son poco frecuentes teniendo en cuenta que se trabaja con elementos complicados generalmente por la utilización de agujas (pinchazos) inmediatamente son reportados a salud ocupacional para desplegar un tratamiento profiláctico eficaz; por su parte a los pacientes se les lleva un estricto control diario, hora a hora, mediante el uso de hojas especiales para pacientes críticos.

Hay que decir que las patologías más comunes dentro de la UCI son las neumonías y representan un problema muy grande para los pacientes con ventilación asistida por cuanto ellos se encuentran inmunodeprimidos y por lo tanto son muy susceptibles a contraerlas, además los tubos de los respiradores van directamente a los pulmones y debido a que deben permanecer mucho tiempo con estos, las probabilidades de contagio aumentan, esto debido al grado de hacinamiento que se presenta en la unidad.

Ahora bien, los tubos que van conectados a los ventiladores son sin lugar a dudas uno de los principales medios de transmisión de agentes patógenos dentro de la UCI, su limpieza la realizan las mismas enfermeras usando la autoclave como medio de esterilización; debido a que no se pueden desechar de inmediato estos tubos representan un gasto para el hospital por lo que deben cumplir una vida útil para después ser desechados.

La droga es suministrada mediante micro nebulizadores que se encargan de volverla un aerosol y de esta manera llevarla directamente a los pulmones de acuerdo a los requerimientos del paciente.

En cuanto a la etiología de las infecciones nosocomiales debemos decir que poco después del amplio uso de la penicilina se encontraron cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a ella, que causaban infecciones en pacientes hospitalizados. A mediados de la década de 1950, la infección nosocomial por *S. aureus*, provocada por la cepa fagotipo específico 80/81, significó un problema mundial que ocasionó el cierre de algunas unidades de neonatales y quirúrgicas y el desarrollo de programas de control de infecciones⁴⁴.

Hoy la mayor parte de las infecciones nosocomiales continúan debiéndose a bacilos aerobios Gram negativos. Los microorganismos pertenecientes al género *Bacteroides* son los agentes anaerobios más frecuentes que causan infecciones nosocomiales. La infección por *S. aureus* y *S. epidermidis* se encuentran asociadas con el uso de los catéteres intravenosos y monitorización intraarterial⁴⁵.

⁴⁴ ENTREVISTA A médicos y personal de enfermería. Hospital Departamental de Nariño. San Juan de Pasto, 2002

⁴⁵ INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS. WWW. LAFACÚCOM

4. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de 20 casos, representados por el personal que labora dentro de la unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Departamental de Nariño; éste personal se encuentra dividido en tres jornadas, cada una conformada por 7 personas, entre médicos, enfermeras y fisioterapeuta, siendo la jornada nocturna la que menor personal tiene.

A cada uno de los casos se le realizó una toma de muestras de orofaringe y palma de las manos, obteniendo un total de 324 muestras entre el periodo comprendido entre el mes de noviembre del año 2002 y febrero del año 2003

Las muestras de catéter se obtuvieron gracias a la colaboración del personal de enfermería, quien se encargó de retirar del paciente éste dispositivo, cortando de él una porción de 5 cms de longitud correspondiente a la región proximal y transportándola en un lapso de 10 minutos hasta el laboratorio para su inmediata siembra.

4.1 TOMA DE MUESTRAS E INOCULACION

Tanto para la región orofaríngea, como para las palmas de las manos, se tomó las muestras con escobillones estériles de madera con algodón.

Se introdujo el escobillon suavemente por la boca hasta la región orofaríngea. Se suprimió la lengua mediante el uso de bajalenguas, frotando los pilares amigdalinos, con un movimiento hacia atrás y adelante. Con otro escobillon se repitió el procedimiento para obtener así una muestra que se usó para tinción de gram.

El transporte de las muestras se efectuó utilizando frascos de 10 ml estériles para las muestras de orofaringe, las cuales se llevaron hasta el laboratorio clínico en donde fueron inoculadas en cajas petri con agar sangre mediante el método de estriación, usando un asa de argolla. La sangre para la elaboración de dicho agar provino de donantes del banco de sangre.

Se usó igualmente agar McConkey sobre el cual se inoculó la muestra, siguiendo el mismo procedimiento ya mencionado, se incubó a 37°C durante 24 horas.

Igual procedimiento se realizó con las muestras de manos; se frotó la palma, espacios interdigitales y almohadillas de los dedos sin importar la presencia o no de guantes. El medio de transporte que se usó fue agua peptonada estéril, distribuida en tubos de ensayo de 5ml, que se incubaron durante 1 hora para después ser inoculados en los dos medio de cultivo señalados anteriormente. Las muestras se incubaron a 37° C por 24 horas.

La recolección de los catéteres se hizo de manera retrospectiva y prospectiva durante el periodo comprendido entre Enero del 2002 a Marzo del 2003. Se obtuvo un total de 139 catéteres los cuales fueron sembrados directamente en agar sangre y en agar McConkey de acuerdo a la técnica de Maki, (Semicuantitative culture method for identifying intravenous-catóter related infection. N Engl J Med 1977) rotando los catéteres en cajas de Petri con agar sangre y McConkey .

Ver anexo G.

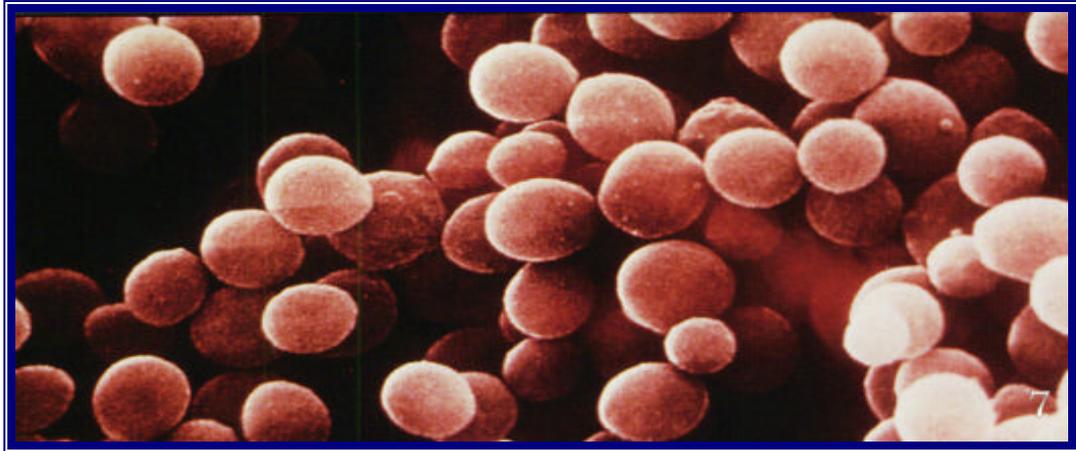
Las cajas de petri ya sembradas fueron posteriormente incubadas durante 24 horas a una temperatura de 37° C.

Con tinción de Gram, se observó en la mayoría de los 139 catéteres estudiados la presencia cocos Gram positivos en racimo, tétradas y diplococos fue predominante lo que sugiere la existencia de un porcentaje mayor de microorganismos del género *Staphylococcus*.

Para la identificación de bacterias Gram positivas se practicó las pruebas de coagulasa, manitol y urea, como pruebas confirmativas asociadas a la tinción de Gram previamente realizada; encontrando que en un 18.62% de los casos la prueba de la coagulasa fue positiva a las 4 horas después de la siembra y se mantuvo así durante 16 horas más, confirmando de acuerdo a Koneman, la presencia de *Staphylococcus aureus*. Ver figura 10.

Figura 10.

Staphylococcus aureus



Las muestras fueron sembradas en agar sangre y agar McConkey mediante el método de estriación y posteriormente se inoculó cada catéter en tubos de ensayo con 3 ml de caldo tioglicolato. Las cajas sembradas se incubaron a 37° C durante 24 horas, al igual que el caldo de enriquecimiento.

4.2 PURIFICACION E IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS GRAM NEGATIVOS

Transcurridas 24 horas de incubación se procedió a realizar los respectivos repiques, usando agar sangre y agar McConkey para cada muestra; con el objetivo de aislar los microorganismos para su posterior identificación.

Se procedió a tomar una colonia de la muestra en estudio y se sembró por estrías en los agares ya mencionados, posteriormente se incubó a 37° C por 24 horas, luego de transcurrido este tiempo se identificaron los microorganismos aislados axenicamente corriendo las siguientes pruebas bioquímicas: agar hierro tres azucares (TSI), agar lisina hierro (LIA), agar citrato Simmons, caldo rojo de metilo y Voges Proskauer (caldo MR-VP), medio de cultivo SIM, y urea de Christensen.

4.3 AGAR HIERRO TRES AZÚCARES (TSI)

4.3.1 Inoculación en los agares de identificación. Se sembró el cultivo puro sometido a identificación, tanto por estría en la superficie (inclinado), y puncionando hasta tocar el fondo del tubo cuando se realizó en columna vertical.

La lectura se efectuó después de 18 a 24 horas de incubación a 37° C.

4.3.2 Interpretación de resultados.

1. Color del tendido: Amarillo (ácido) A o rojo (alcalino) K
2. Color del fondo: Amarillo (ácido) A o rojo (alcalino) K
3. producción de CO₂ : presencia de burbujas o desplazamiento del medio.
4. Producción de H₂S: ennegrecimiento del medio.

+ : Ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra.
++++ : Ennegrecimiento casi total del medio.

4.4 AGAR LISINA HIERRO (LIA)

4.4.1 Inoculación de LIA. Este medio nutritivo se sembró con el cultivo puro sometido a ensayo, tanto por estría sobre la superficie inclinada como por picadura central en la columna vertical subyacente.

Incubación: se hizo por 18-24 horas a 37 grados centígrados.

Interpretación:

1. Color del tendido: púrpura (alcalino) K. o Rojo (deaminación oxidativa) R.
2. Color del fondo Amarillo (Ácido) A. Púrpura: (alcalino) (decarboxilación) K.
3. Producción de CO₂ : burbujas dentro del medio.
4. Producción de H₂S : ennegrecimiento del medio.

4.5 AGAR CITRATO SIMMONS

4.5.1 Inoculación de agar citrato Simmons. El cultivo puro de estudio se sembró, por estrías, en la superficie del medio de cultivo, y se puncionó hasta tocar el fondo del tubo de ensayo.

Incubación: se realizó durante 24 a 48 horas a 37°C.

Interpretación de agar citrato Simmons:

Si no hay cambio de color (verde) y no hay crecimiento = negativo, entonces el tubo puede reincubarse por 7 días para determinar reacciones positivas retardadas.

Si no hay cambio de color y hay crecimiento = dudoso positivo. La prueba debe repetirse. Ver figura 11.

Figura 11. Pruebas bioquímicas para bacterias Gram negativas



TSI (Amarillo con
crecimiento
bacteriano) A/A
TSI (Rojo Agar Puro)

LIA (Púrpura) con
crecimiento
bacteriano. K/K
LIA (Púrpura)
Agar Puro

Citrato Simmons
(Verde) Agar Puro
(Azul) Agar con
crecimiento
bacteriano

4.6 CALDO ROJO DE METILO-VOGES PROSKAUER

4.6.1 Inoculación. Se sembró dos tubos de caldo MR-VP con el cultivo puro objeto de investigación.

Se inoculó el medio Rojo de Metilo- Voges Proskauer ligeramente; el mismo medio sirvió para las dos pruebas ya que en el momento de hacer las lecturas se dividió el cultivo en tubos separados.

Incubación. Se incubó hasta 48 horas a 37 grados centígrados, aunque algunos métodos recomiendan la incubación de 5 días a 30° C en caso de reacciones dudosas.

Interpretación de MR-VP:

La lectura determina que:

1. Rojo = positivo.
2. Amarillo = Negativo
3. Del rojo al naranja = débilmente positivo.

4.7 AGAR SIM

4.7.1 Inoculación. El cultivo puro sometido a examen se sembró por picadura central desde la capa superior del medio de cultivo hasta el fondo del tubo de ensayo.

Incubación. De 18 a 24 horas a 37 grados centígrados.

Interpretación: La motilidad se evidencia por un halo turbio a lo largo de la línea de punción.

4.8 PRUEBA DE INDOL

Se efectuó mediante el reactivo según Kovacs (Merck). La formación de indol dio lugar a una coloración rojo- púrpura de la capa de reactivo.

Después del proceso de incubación de 18 a 24 horas a 37°C se agregó 0.3-0.5 ml del reactivo de Kovacs por las paredes del tubo, se dejó reposar y se observó el color del anillo.

4.8.1 Interpretación

1. Anillo rosado o rojo = Indol +
2. Anillo incoloro = Indol -

4.9 UREA DE CHRISTENSEN

4.9.1 Inoculación. En un tubo de ensayo con urea, se sembró una porción de la colonia de estudio.

Incubación: Se realizó por un periodo de 24 horas a 37°C, al cabo de los cuales se observó el cambio en el color del medio.

Interpretación: La prueba es positiva cuando se observa cambio de color de amarillo a rosado o fucsia y la prueba es negativa si no se observa cambio de color.

4.10 AGAR MANITOL SAL COMÚN ROJO DE FENOL

4.10.1 Inoculación. La siembra se realizó en superficie, por estrías. Debido al potente efecto inhibitor de este medio, debió sembrarse masivamente.

Incubación: La incubación fue de 24 horas a 37 grados centígrados

Interpretación:

Manitol - positivos: Con halo amarillo luminoso; crecimiento intenso: *Staphylococcus aureus*.

Manitol- negativos: Sin cambio de color; crecimiento débil: *Staphylococcus epidermidis* y otros.

4.11 PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN COMPLEMENTARIA

4.11.1 Factor de coagulación. *Staphylococcus aureus* forma grumos cuando se lo mezcla con plasma debido a una interacción entre el fibrinógeno y un compuesto bacteriano de la superficie celular llamado factor de aglutinación. Este factor se puede detectar en forma rápida por el laboratorio, y constituye una prueba de screening para diferenciar *Staphylococcus aureus* (factor de aglutinación positivo en un 95% de las cepas) de otras especies del género *Staphylococcus*.

Para la prueba de coagulasa se procedió de la siguiente manera: En un tubo de ensayo se colocó 0.5 ml de plasma humano fresco con EDTA, diluido 1:4 en solución salina, se colocó 0.5 ml de un inóculo grande de un cultivo sólido, se mezcló e incubó a 37 grados centígrados. Se observó a las cuatro horas para ver la formación de coagulo.

La identificación de *Staphylococcus aureus* patógeno se basó en el cultivo sobre agar sangre y la prueba de coagulasa. Ver figura 12.

Figura 12. Prueba de coagulasa en tubos



Tubo 1: Positivo, pequeños coágulos no organizados.

Tubo 2: Positivo, pequeños coágulos organizados.

Tubo 3: Positivo, gran coágulo organizado.

Tubo 4: Positivo, Todo el contenido aparece coagulado y se mantiene cuando se invierte el tubo.

Se consideran positivos los grados tres y cuatro.

Controles: Debe controlarse el plasma coagulasa usando:

Staphylococcus aureus: +

Staphylococcus epidermidis: -

5. ANALISIS COMPARATIVO PARA DATOS RETROSPECTIVOS Y PROSPECTIVOS EN CATETERES MEDIANTE LA PRUEBA Z

Mediante la prueba Z se realizó una comparación entre los datos obtenidos a partir del primer día de investigación y que se consideraron como prospectivos y los datos ya existentes en los libros de registros del laboratorio que se consideraron como retrospectivos, de esta manera se obtuvo una diferenciación de las proporciones para catéteres dentro de la unidad de cuidados intensivos del hospital Departamental de Nariño.

5.1 FORMULA DE LA PRUEBA Z

La prueba Z se utiliza para obtener diferencias entre las proporciones obtenidas, en este caso $p_2 - p_1$, entonces:

$\mu = 0$ Hipotesis nula

H_0 Hipotesis de trabajo

P: Diferencia entre las proporciones presentes en la muestra ($p_2 - p_1$).

μ : Diferencia entre las proporciones presentes en la población, ($\mu_2 - \mu_1$).

Ó P: Es el error estándar de P, que es la diferencia de las proporciones.

p_2 y p_1 : Son las proporciones de la muestra.

n_2 y n_1 : Son los tamaños de la muestra.

Z: Prueba estadística.

FORMULA PRUEBA Z:

$$Z = \frac{p - \mu}{\sigma_p} = \frac{p_2 - p_1}{\sqrt{\frac{p_1(1-p_1)}{n_1} + \frac{p_2(1-p_2)}{n_2}}}$$

$2 = 1$, entonces $= 0 \Rightarrow$ Hipótesis nula
 $2 \neq 1$, entonces $\neq 0 \Rightarrow$ Hipótesis de trabajo

Cuando el valor de significancia p es menor de 0.05 se rechaza la hipótesis nula, es decir, si hay diferencia en las proporciones y por lo tanto se acepta la hipótesis de trabajo.

6. RESULTADOS

Se tomaron 48 muestras que representaron la parte prospectiva (n_2) de la investigación y 91 muestras obtenidas a partir de los registros de laboratorio correspondientes a la parte retrospectiva (n_1). En base a estos datos y de acuerdo a la aplicación de la prueba z se obtuvo los siguientes resultados:

Cuadro 2. Diferencia porcentual entre los datos retrospectivos y prospectivos para catéteres

Microorganismos	Retrospectivo $n_1 = 91$	Prospectivo $n_2 = 48$	Z calculado	p value
<i>Cándida sp (LEV)</i>	4.39	16.66	2.45	0.0142*
<i>Staphylococcus sp</i>	25.27	35.41	1.255	0.209
<i>Pseudomonas sp</i>	7.69	6.25	0.312	0.755
<i>Serratia sp</i>	7.69	18.75	1.942	0.052*
<i>Citrobacter sp</i>	0	4.16	1.954	0.0501*
<i>Enterobacter sp</i>	16.48	16.66	0.027	0.978
<i>Klebsiella sp</i>	7.69	0	-8.62	0.00*
<i>Hafnia alvei</i>	2.19	0	-1.03	0.302
<i>Escherichia coli</i>	4.39	8.33	0.9487	0.343
<i>Proteus sp</i>	2.19	0	-1.033	0.302

6.1 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA *Cándida sp*:

Los valores de Z y el valor de p son los siguientes:

Z calculado = 2.45 p value = 0.0142

Esta diferencia fue altamente significativa, teniendo en cuenta que el porcentaje de *Cándida sp* en los registros de laboratorio fue de 4.39% en contraste al valor encontrado al finalizar el proyecto que fue de 16.66%.

La virulencia de *cándida sp* ha sido atribuida a la producción de pseudomicelios, a la presencia de enzimas, a la facilidad de adherirse al epitelio de las mucosas y a la formación del tubo germinal.

6.1.1 Factores de riesgo. Entre los factores de riesgo predisponentes más importantes están los siguientes:

- Ocupaciones que signifiquen contacto frecuente con agua, predisponen a candidiasis de palmas, plantas y espacios interdigitales.
- Sudoración, calor y roce facilitan la proliferación del microorganismo, con la aparición de lesiones.
- Administración prolongada de antibióticos.
- Alteraciones básicas del sistema inmune, por ejemplo pacientes con defectos funcionales de los leucocitos.
- Quemaduras extensas, malnutrición o diálisis peritoneal.

6.2 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA *Serratia sp*:

Los valores de Z y el valor de p son los siguientes:

Z calculado = 1.942 p value = 0.052

Serratia sp presentó un porcentaje del 7.69% correspondiente a la parte retrospectiva en comparación al encontrado de 18.75% durante la etapa prospectiva, lo que indica significancia estadística.

6.2.1 Factores de riesgo. Los factores que se acompañan de un mayor riesgo de infección y que sustentan el aumento de *Serratia sp* en esta investigación son:

- Cateterismo prolongado.
- Enfermedad subyacente grave.
- Desconexión del catéter y del tubo de drenaje.
- Cuidados deficientes del catéter.
- Ausencia de un tratamiento antibiótico sistémico.
- Contacto de catéteres con manos contaminadas del personal hospitalario.
- Uso de desinfectantes y de instrumental contaminados.

El crecimiento bacteriano sobre la superficie interna de los catéteres produce unas costras constituidas por bacterias, glucocálices bacterianos, etc. Y puede constituir uno de los factores de protección y de resistencia a los antimicrobianos y fagocitos.

6.3 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA *Klebsiella sp*

Los valores de Z y el valor de p son los siguientes:

Z calculado = -8.62 p value = 0.00

La diferencia estadística para *Klebsiella sp* es altamente significativa, puesto que el porcentaje fue de 7.69% en registros anteriores y 0.00% durante la investigación.

De acuerdo a los datos recolectados a lo largo del trabajo se logró evidenciar una drástica disminución de la bacteria, en comparación a registros anteriores, que concuerdan con la información en donde *Klebsiella* es un residente normal del colon, del tracto intestinal y tracto biliar, pero en orofaringe la presencia de *Klebsiella* se puede dar por factores tales como la intubación endotraqueal, inmunosupresión y el uso de antimicrobianos.

Klebsiella sp. No presenta niveles tan altos como los presentados por otras bacterias como *Staphylococcus*, los cuales son los más frecuentes colonizadores de catéteres. (Morbidity and Mortality Weekly Report. MMWR. Epidemiology and Microbiology. August. 2002) Sin embargo los registros anteriores demuestran que posiblemente la alta frecuencia de la bacteria pudo presentarse por condiciones especiales tales como la presencia de pacientes inmunosuprimidos con bronconeumonía crónica, diabetes o alcoholismo, los cuales al presentar bajas defensas contribuyeron al proceso invasivo, además algunos autores han relacionado a los bacilos gram negativos con el uso de dispositivos presurizados y con la contaminación de los fluidos intravenosos.

6.4 DIFERENCIAS ENTRE LOS DATOS PROSPECTIVOS Y RETROSPECTIVOS PARA *Citrobacter sp*

Los valores de Z y el valor de p son los siguientes:

Z calculado = 1.954 p value = 0.0501

Citrobacter sp presentó un porcentaje del 0% correspondiente a la parte retrospectiva en comparación al 4.16% encontrado durante la etapa prospectiva, lo que indica significancia estadística.

La repentina aparición de *Citrobacter sp* con un 4.16% después del análisis respectivo de las muestras. Teniendo en cuenta lo anterior se presentan los siguientes factores de riesgo para *Citrobacter sp*.

6.4.1 Factores de riesgo.

- Sistema de distribución del agua, como llaves y tuberías.
- Manos del personal que prestan asistencia.

- Resistencia a los antibióticos.
- Inmunodepresión del paciente después de una intervención quirúrgica ó de un Traumatismo.
- Infección de heridas quirúrgicas.
- Contaminación de catéteres.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LAS MUESTRAS DE PALMAS DE MANOS Y OROFARINGE

7.1 Prueba del CHI cuadrado x^2 :

Prueba utilizada para observar la asociación entre variables categóricas.

La asociación entre variables, permite establecer si existen diferencias entre las frecuencias de los diferentes microorganismos en relación con las variables planteadas.

Cuadro 3. Resultado de la asociación entre variables

VARIABLES	Chi cuadrado (X ²)	GRADOS DE LIBERTAD (GL)	VALOR DE p
Personal Vs M.A.S procedentes de Manos	X ² = 31.51	Gl = 30	p = 0.3907
Personal Vs M.A.Mc procedentes de Manos	X ² = 19.35	Gl = 21	p = 0.5629
Personal Vs M.A.S procedentes de Orofaringe	X ² = 17.47	Gl = 21	p = 0.6822
Personal Vs M.A.Mc procedentes de Orofaringe	X ² = 19.21	Gl = 27	p = 0.8621
Turno Vs M.A.S procedentes de Manos	X ² = 23.32	Gl = 20	p = 0.2731
Turno Vs M.A.Mc procedentes de Manos	X ² = 15.23	Gl = 14	p = 0.3629
Turno Vs M.A.S procedentes de Orofaringe	X ² = 15.90	Gl = 14	p = 0.3192
Turno Vs M.A.Mc procedentes de Orofaringe *	X ² = 28.61	Gl = 18	p = 0.05

M.A.S (Microorganismos con crecimiento en agar sangre).

M.A.Mc (Microorganismos con crecimiento en agar McConkey).

* **Variable Estadísticamente significativa.**

PRUEBA DE CHI CUADRADO: X^2

GRADOS DE LIBERTAD GL: Indica el número de categorías de las dos variables.

VALOR DE p: es el valor de significancia estadística que determina la relación.
0.05: Valor estándar.

$$X^2 = \frac{(F_o - F_e)^2}{E}$$

F_o: Frecuencias observadas.

F_e: frecuencias esperadas.

E: es el valor de las frecuencias esperadas.

Se aplicó la prueba de Chi cuadrado empleando el programa Statgraphycs con el objeto de observar si dichas diferencias son estadísticamente representativas.

Se observó que solo la asociación entre las variables microorganismos con crecimiento en agar McConkey procedentes de Orofaringe Vs Turno, fue estadísticamente significativa, y se obtuvo los siguientes resultados

$$X^2 = 28.61$$

$$Gl = 18,$$

$$p = 0.05$$

Cuadro 4. Relación entre tipo de microorganismos presentes en orofaringe con crecimiento en agar McConkey Vs Turno.

Microorganismo	Mañana	Tarde	Noche	Total
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0 0.00 %	1 33.33%	0 0.00%	1 6.25%
<i>Enterobacter Gergoviae</i>	0 0.00%	0 0.00%	1 50.00%	1 6.25%
<i>Hafnia Alves</i>	4 36.36%	0 0.00%	0 0.00%	4 25.00%
<i>Hafnia Alves</i>	0 0.00%	0 0.00%	1 50.00%	1 6.25%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 9.09%	1 33.33%	0 0.00%	2 12.50%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	0 0.00%	1 33.33%	0 0.00%	1 6.25%
<i>Klebsiella Ozaenae</i>	1 9.09%	0 0.00%	0 0.00%	1 6.25%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 9.09%	0 0.00%	0 0.00%	1 6.25%
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	1 9.09%	0 0.00%	0 0.00%	1 6.25%
<i>Serratia Liquefasciens</i>	3 27.27%	0 0.00%	0 0.00%	3 18.75%
Columna Total	11 68.75%	3 18.75%	2 12.50%	16 100%

Tanto *Serratia sp*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, y *Hafnia alvei*, pertenecen a la tribu *Klebsiellaceae*. Su presencia en el anterior estudio no solo está basada en sus características propias de crecimiento, también se relacionan con las condiciones propias de la unidad de cuidados intensivos, como el hacinamiento, entre otras; además de la posible presencia de pacientes quienes durante el periodo de muestreo presentaron patologías en donde estos microorganismos estuviesen involucrados; es posible también, que el personal de enfermería y medico haya actuado como reservorio y medio de transporte debido al continuo interactuar con los pacientes, facilitando la autocolonización y a su vez la contaminación de los fluidos intravenosos y el mal uso de dispositivos para monitoreo hemodinámico.

En cuanto a *Hafnia alvei* su actividad fisiológica varía de acuerdo a la temperatura, ya que presenta movilidad a 22°C y se vuelve inmóvil a los 37°C, por tal motivo es posible que su presencia en el turno de la mañana y en la noche se deba a la variación de la temperatura, sumada a una posible e inadecuada manipulación de los fluidos dentro de la unidad.

Serratia sp, posee características similares ya que se trata de un microorganismo que crece entre 20-37°C, pero inhibe su crecimiento a temperaturas mayores de 45°C y a un pH menor de 4.5.

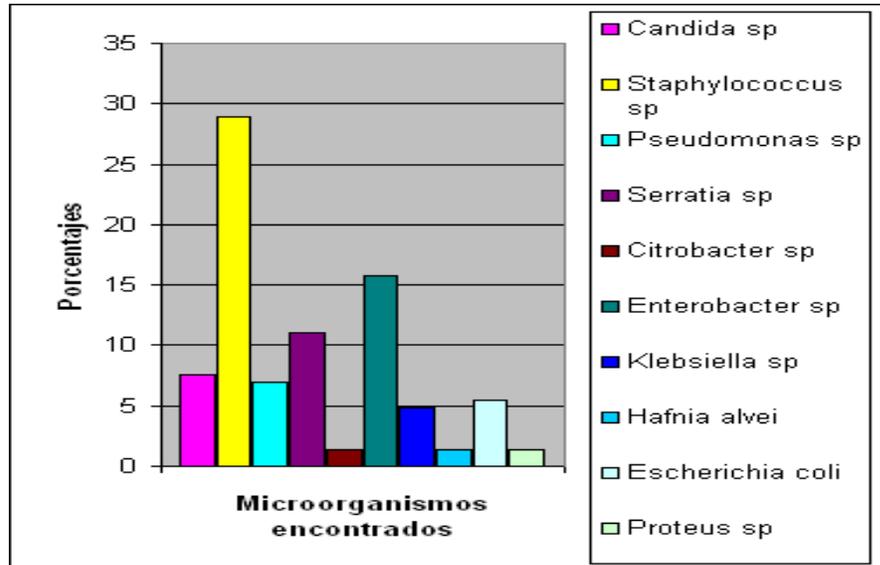
Sin embargo también puede presentar un crecimiento inconstante a una temperatura de 5 – 40°C. De igual manera otros factores como el grado de pH del medio en el que se desarrolla, o el estado propio del paciente y la interacción con el entorno cercano, podrían ser los responsables de su presencia en turnos determinados.

A continuación se presenta la agrupación general de microorganismos presentes en punta de catéter subclavio, en donde se demostró que existe un promedio elevado de bacterias del género *Staphylococcus* (28.96%), siendo éste el de mayor porcentaje con relación a los demás microorganismos. Ver cuadro 5, figura 13.

Cuadro 5. Agrupación General de microorganismos presentes en punta de catéter subclavio.

Microorganismos	Número de microorganismos	Porcentaje
<i>Cándida sp</i>	12	7,58%
<i>Staphylococcus sp</i>	40	28,96%
<i>Pseudomonas sp</i>	10	6,89%
<i>Serratia sp</i>	16	11,03%
<i>Citrobacter sp</i>	2	1,37%
<i>Enterobacter sp</i>	23	15,80%
<i>Klebsiella sp</i>	7	4,82%
<i>Hafnia Alves</i>	2	1,37%
<i>Escherichia coli</i>	8	5,51%
<i>Proteus sp</i>	2	1,37%

Figura 13. Agrupación de microorganismos presentes en punta de catéter subclavio



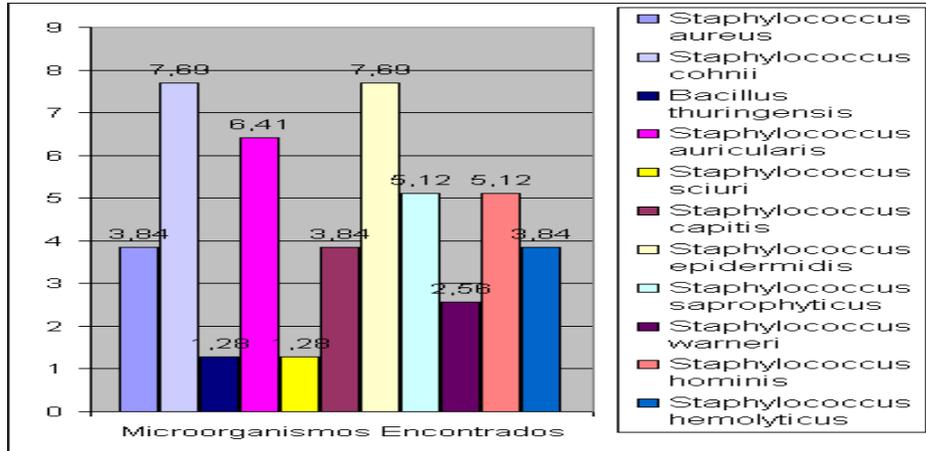
La frecuencia con que se presentan los microorganismos en agar sangre procedente de manos arrojó los siguientes resultados:

Se encontró que *Staphylococcus cohnii* fue la bacteria predominante, presentando un porcentaje del 7.69%; al igual que *Staphylococcus epidermidis* en igual porcentaje. Ver cuadro 6, figura 14.

Cuadro 6. Frecuencia de microorganismos en agar sangre, procedentes de manos.

Microorganismos	Número de microorganismos	Porcentaje
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3.84%
<i>Staphylococcus cohnii</i>	6	7.69%
<i>Bacillus thuringensis</i>	1	1.28%
<i>Staphylococcus auricularis</i>	5	6.41%
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	1.28%
<i>Staphylococcus capitis</i>	3	3.84%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	7.69%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4	5.12%
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	2.56%
<i>Staphylococcus hominis</i>	4	5.12%
<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	3	3.84%
Total de microorganismos	38	48.67%
Muestras Negativas	34	43.5%
Número de muestras	78	
MuestrasContaminadas	6	7.69%
Total		99.86%

Figura 14. Frecuencia de Microorganismos en agar sangre, procedentes de manos.

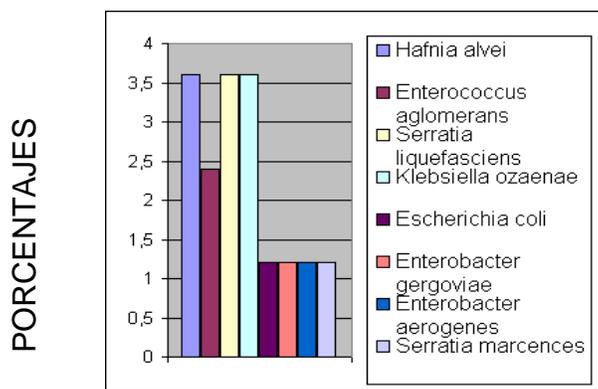


La frecuencia de microorganismos procedentes de manos con crecimiento en agar McConkey arrojó los siguientes resultados:
 Las siguientes bacterias: *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens* y *Klebsiella ozaenae*. se presentaron en un 3.61%. Ver cuadro 7, figura 15.

Cuadro 7. Frecuencia de microorganismos en manos, presentes en agar Mc Conkey

Microorganismos	Número de microorganismos	Porcentaje
<i>Hafnia alvei</i>	3	3.61%
<i>Enterococcus aglomerans</i>	2	2.40%
<i>Serratia liquefasciens</i>	3	3.61%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3	3.61%
<i>Escherichia coli</i>	1	1.20%
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	1.20%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1.20%
<i>Serratia marcescens</i>	1	1.20%
Total de microorganismos	15	18%
Muestras Negativas	62	74.5%
Nº de muestras	83	
Muestras Contaminadas	6	7.22%
Porcentaje total		99.72%

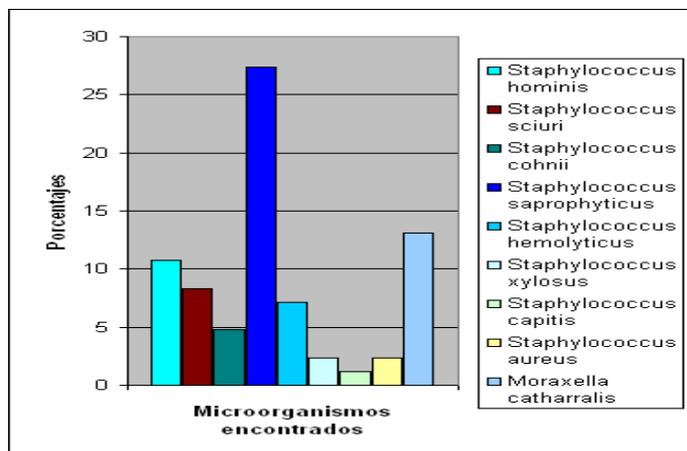
Figura 15. Frecuencia de microorganismos en manos, presentes en agar McConkey



MICROORGANISMOS ENCONTRADOS

27.38 % corresponde a *Staphylococcus saprophyticus*. Ver figura 16.

Figura 16. Frecuencia de microorganismos en agar sangre procedentes de orofaringe



También se identificó a *Moraxella catharralis* como una de las bacteria más frecuente aislada de orofaringe y sembrada en agar sangre, encontrándose en un 13.09% Ver cuadro 8.

Cuadro 8. Frecuencia de microorganismos presente en agar sangre procedentes de orofaringe

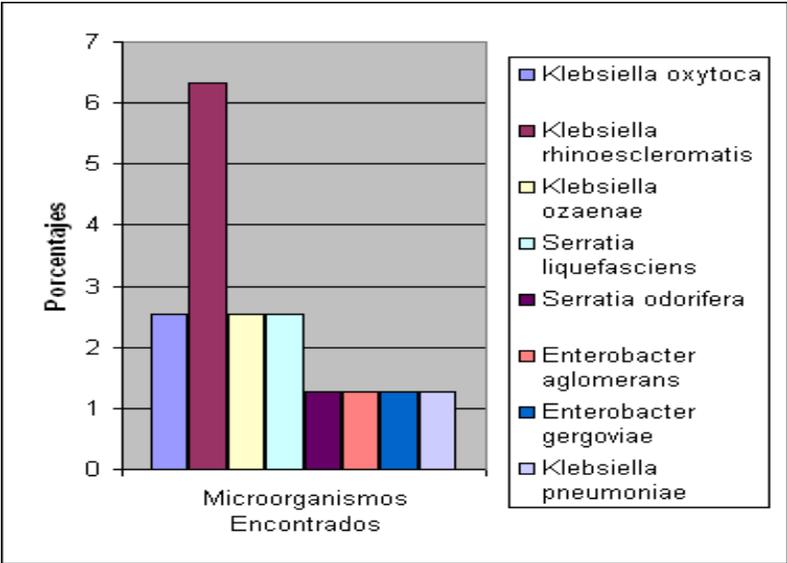
MICROORGANISMOS	Número de microorganismos	PORCENTAJE
<i>Staphylococcus hominis</i>	9	10.71%
<i>Staphylococcus sciuri</i>	7	8.33%
<i>Staphylococcus cohnii</i>	4	4.76%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	23	27.38%
<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	6	7.14%
<i>Staphylococcus xylosum</i>	2	2.38%
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1.19%
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2.38%
<i>Moraxella catharralis</i>	11	13.09%
Nº de microorganismos	65	77.36%
Muestras Negativas	11	13%
Nº de muestras	84	
No se tomó muestras	3	3.6%
Muestras Contaminadas	5	6%
Porcentaje total		99.96%

El microorganismo más frecuente aislado de muestras de orofaringe y con crecimiento en agar McConkey fue *Klebsiella rhinoescleromatis*, presentándose en un 6.32% seguido por *K. oxytoca* y *K. ozaenae* con 2.53%. Cuadro 9, Figura 17.

Cuadro 9. Frecuencia de microorganismos presente en agar Mc Conkey, procedentes de orofaringe

Microorganismos	Número de Microorganismos	Porcentaje
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	2.53%
<i>Klebsiella rhinoescleromatis</i>	5	6,32%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	2,53%
<i>Serratia liquefasciens</i>	2	2,53%
<i>Serratia odorífera</i>	1	1,26%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1,26%
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	1,26%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1,26%
Nº de microorganismos encontrados	15	19%
Muestras Negativas	61	77.21%
Nº de Muestras	79	
No se tomó muestra	3	3.79%
Porcentaje total		100%

Figura 17. Frecuencia de microorganismos en agar McConkey procedentes de orofaringe



8. CONCLUSIONES

- El estado de inmunosupresión del paciente, la resistencia a los antibióticos, la mala higiene en las manos del personal que manipula los diferentes dispositivos de soporte de vida, el cateterismo prolongado entre otros, facilitan el crecimiento en catéteres de microorganismos como: *Klebsiella sp*, *Citrobacter sp*, *Serratia sp* y *Cándida albicans*.
- *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más frecuente en punta de catéter (28.96%) coincidiendo con los registros encontrados en (Morbidity and Mortality Weekly Report MMWR. Epidemiology and Microbiology. Vol. 51 N° RR10, 2002) en los que se reporta a éste microorganismo como el principal colonizador de catéteres.
- La relación entre microorganismos procedentes de orofaringe con crecimiento en agar McConkey y Turno de trabajo; muestra que microorganismos como: *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter sp.* y *Klebsiella sp.*; se presentaron por factores relacionados a la capacidad de colonización de éstos, sumada a las condiciones de exposición del personal frente a los pacientes, la autocolonización del personal de salud que al momento de la toma de muestras posiblemente haya estado enfermo.
- El análisis estadístico de los registros de laboratorio del H.D.N previos a éste trabajo, indicaron la existencia de *Klebsiella sp.* en un 7.69%. Por su parte, la presente investigación no encontró *Klebsiella sp.* durante el proceso de identificación a partir de muestras de catéter; lo cual sugiere que la presencia de dicho microorganismo se da en condiciones especiales: contaminación de los fluidos intravenosos, deficiente manipulación e inapropiado uso de las barreras de protección.

9. RECOMENDACIONES

El incumplimiento de las medidas sanitarias es uno de los factores determinantes para el resurgimiento de enfermedades, por lo tanto se sugiere lo siguiente:

- Implementación de nuevos planes de control de infecciones, basado en un intercambio de información con otros hospitales teniendo como objetivo la creación de un sistema de monitoreo y control de enfermedades nosocomiales a nivel nacional.
- Patrocinar nuevas investigaciones y dar continuidad a las ya existentes, mediante la colaboración de la administración del hospital por medio de un aporte económico eficaz.
- Evaluar al personal de salud mediante pruebas periódicas sobre la utilización de las normas de bioseguridad en forma permanente, garantizando una notoria mejoría en la prestación del servicio hacia los usuarios.
- Promover la implementación de nuevas técnicas de identificación de bacterias dentro del laboratorio, logrando así la introducción del hospital Departamental de Nariño en su parte microbiológica a los últimos adelantos científicos y tecnológicos.

BIBLIOGRAFÍA

BERNARD, John Henry. Diagnostico y tratamientos clínicos por el Laboratorio. 9ª ed.. New York : Masson Salvat Medicina, 1993. p. 1341-1349

BLACK, W.A. y VAN BUSKIRK, F. Gentamicin blood agar used as a general purpose selective medium. New York, 1973. p. 905-907.

CARNEY, D. et al. Bacteremia Due to *Staphylococcus aureus* in patients with cancer : Report on 45 cases and review of the literature. Rev Infelt Dis 4: 1-2, S. L. 1982. s. p.

CORREA Ana et al, Limpieza y desinfección. Medellín, Colombia : Hospital Pablo Tobón Uribe, 2002. p. 23,38,51

EINSTEIN B. *Enterobacteriaceae*. In: Mandell GI, Bennett JE, Dolin E, Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Vol 2. 5th Ed. New York : 2000. p. 294- 310.

EL VON DE A. GRAEVENITZ, S.J.RUBIN.1980. El género *Serratia*. CRC Press Inc, Boca Ratón, Florida : p. 3 . DIRECCION INTERNET

ENTREVISTA Médicos y personal de Enfermería. Hospital Departamental de Nariño, San Juan de Pasto : 2002.

Especialidades de la segunda edición- Enfermedades Infecciosas. ([www.indexmedico.com](http://www.indexmedico.com/cat.cc.md.us/courses/bio141/labmanua/lab15/115index.html))cat.cc.md.us/courses/bio141/labmanua/lab15/115index.html91. p. 9

FERNÁNDEZ, Alonso; BAQUERO MOCHALES F. El género *Serratia*: Su biología efectos clínicos y epidemiología. España : s.n., 1994. p. 194, 294 -299 (www.medline.com).

FUDENBERG, et al. Manual de Inmunología Clínica. 2ª ed. México : El Manual Moderno, 1980. p. 395,664,675.

GUPTA, P.K.; MITAL, B.K. y GARG, S.K. *Lactobacillus-acidophilus* contra patógenos diferentes en la leche. En : periódico de ciencia y tecnología de la comida. Madrid. Vol. 33, 1996. p. 147-149.

GRANJERO, J.J. *Enterobacteriaceae*: La introducción e identificación. In: P. R. MURRAY, E.J. EL BARÓN, M.A. PFALLER, F.C. TENOVER y R.H. YOLKEN : El manual de microbiología clínica, 7 ed. Washington : La prensa de ASM, 1999. p. 442-458.

HARRISON FAUCI, A. et.al. *Principios de Medicina Interna*. 14ª ed. Madrid : Mc Graw-Hill- Interamericana, 1998. p. 1077.

Infecciones Intrahospitalarias (IIH) ([WWW. LAFACÚ. COM](http://WWW.LAFACÚ.COM)).

JAWETZ, MIELNICK y ADELBERG. *Microbiología Médica*. 15ª ed. México : El Manual Moderno, s.f. Vol. 2. p. 256

KAISER G. *Microbiología Médica : manual de procedimientos*. Santa fé de Bogotá : I.N.S, 1990.

KONEMAN et al. *Diagnóstico Microbiológico*. 3ª ed. New York : Interamericana., 1998. p. 234-408.

KLOOS. W.E., JORGENSEN J. H. *Staphylococci*. In : Starr MP, STOLP H, TROUPER HG, BALLOWS. et. al: *The Prokaryotes; Handbook on habitats isolation, and identification of bacterias*. 4ht Ed. New York Springer-Verlag : 1981p 243-245

NAVARRETE NAVARRO, Susana. Asociación Mexicana para el estudio de las infecciones nosocomiales, AC. ameinac@yahoo.com.mx

MADIGAN, Michael; MARTINKO, John y PARKER, Jack Brock. *Biología de los microorganismos*. 8ª ed. Madrid : Prentice-hall, 1999. p. 698 – 916.

Mc Conkey. A: Lactose- fermenting bacteria in faeces, 1905. p 333-379

MERCK. *Manual de Medios de cultivo*. Alemania : MERCK. 1994. p. 235

MERCK SHARP Y DOMME. *Manual Merck de información médica general*. España : Océano. 1997. p. 148,121,118,75,107

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, Colombia. *Microbiología mèdica : Manual de procedimientos*. Santafé de Bogotá : Instituto Nacional de Salud,1990. s. p.

Monografías. Los antibióticos. www.monografias.com.

HOSPITAL UNIVERSITARIO DEL VALLE, Cali. *Normas de Bioseguridad Cali* : Hospital Universitario del Valle.

(www.intrah/univalle.edu.co).

PANIAGUA, Marisa. Infección Nosocomial producida por *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistentes (SARM). Buenos Aires : CENTRO DE CONTROL DE INFECCIONES DE LA CLÍNICA BAZTERRICA, 1999. s. p.

Prevén. www.hrc.es/preven1.html.

PIATKIN Y KRIVOSHEIN. Microbiología con virología e inmunológica. 3ª ed. Moscú : MIR, 1989. p. 69-70.

RESTREPO, A., et.al. Fundamentos de Medicina : Enfermedades Infecciosas. 5ª ed. Medellín : Corporación para Investigaciones Biológicas –CIB-, 1996. p. 425-427.

ROMEO. Microbiología y parasitología humana. México. p 702

SCHERING CORPORATION, USA. Guía de Laboratorios para la Identificación Bacteriana 3. Especies de *Serratia sp.* SCHERING CORPORATION, USA. s.p.

_____. Guía de Laboratorios para la Identificación Bacteriana 5 Especies de *Pseudomonas sp.* s.p.

SOBERON, Gloria. Instituto de Biotecnología. México : UNAM, 1998. s.p.

COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. SUBDIRECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA Y LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA. Prueba de idoneidad en microbiología clínica. Santa fé de Bogotá : Instituto Nacional de Salud, 2002.

_____. Prueba de Idoneidad en Microbiología clínica. Instituto Nacional de Salud. Santa fé de Bogotá : Instituto Nacional de salud, Julio del 2001. p.12-13

TODD. J FISHAUT. M, CAPRAL. F, et al: Toxic shock syndrome associated with phage group 1 *Staphylococci* lancet . New York : s.n.,1978. p. 1116- 1118

TOFTE, R. and WILLIAMS, D. Toxic shock Syndrome : Evidence of a broad clinical spectrum. Madrid : JAMA, 1981. p. 2163-2167

URMENYI, A. M. Y FRANKLIN, A. W. La muerte de neonatos por infecciones de coliformes pigmentarios. s. l. : Lanceta, 1961. p. 313-315

WALVOGEL, FA. *Staphylococcus aureus*, In MANDEL, G.L.; DOUGLAS, R.G. and BENETH. J. E. (Editors). Principles and practice of infection Diseases. 2th. ed. New York : John Wiley & Sons, 1985. p 1097- 1117

WWW. Educacionmedica.com.mx.

ANEXOS

Anexo A. Preparación de agar sangre (MERCK O DIFCO):

Agar destinado para el aislamiento y cultivo de diversos microorganismos, sobre todo patógenos exigentes y para su determinación.

COMPOSICION: (gramos/litro)

- | | |
|--|----------|
| • Sustrato Nutritivo(Extracto de corazón y peptona | 20.0 g |
| • Cloruro sodico | 5.0 g |
| • Agar-agar | 15.0 g |
| • Adición de sangre de Humano con EDTA | 15-18 ml |

PREPARACION:

Disolver 40 g /l, esterilizar en autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 121°C. Se deja enfriar a 45-50° C y se incorpora la sangre en una proporción de 5 a 8 % y se vierte en cajas de petri.

Su pH está entre 6.8 +/- 0.2.

Anexo B. Agar McConkey (MERCK):

Agar selectivo para el aislamiento de Enterobacterias a partir de heces, orina, alimentos o aguas residuales etc...

PREPARACION:

Disolver 50 g/l del agar y esterilizarlos en autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 121° C, luego se vierte en cajas de petri y se deja secar a temperatura ambiente. Su pH está entre 7.1 +/- 0.1.

El medio de cultivo preparado es claro y de color rojo parduzco.

COMPOSICION:

- | | |
|----------------------------|---------|
| • Peptona de Caseína | 17.0 g |
| • Peptona de carne | 3.0 g |
| • Cloruro sodico | 5.0 g |
| • Lactosa | 10.0 g |
| • Mezcla de sales biliares | 1.5 g |
| • Rojo neutro | 0.03 g |
| • Violeta cristal | 0.001 g |
| • Agar –agar | 13.5 g |

DESCRIPCION

- | COLONIAS | MICROORGANISMOS |
|---|---------------------------------------|
| • Grandes, rojas, halo turbio | E. coli |
| • Grandes, rosadas, mucosas | Enterobacter, Klebsiella |
| • Diminutas, de crecimiento aislado, opacas | Enterococos, stafilococos
Y otros. |

Anexo C. Agar triple azucar hierro (TSI):

Medio por el cual se observa la capacidad de germen para fermentar lactosa, sacarosa y glucosa, con formación de ácido o de ácido y gas, además de la capacidad para producir ácido sulfhídrico (H₂S)

COMPOSICION:

• Extracto de carne	3.0 g
• Extracto de levadura	3.0 g
• Peptona	15.0 g
• Proteosa peptona	5.0 g
• Lactosa	10.0 g
• Sacarosa	10.0 g
• Glucosa	1.0 g
• Sulfato ferroso	0.2 g
• Tiosulfato de sodio	0.3 g
• Agar	15.0 g
• Rojo de fenol	0.024 g
• Cloruro de sodio	5.0 g
• Agua destilada	1000.0 ml

PREPARACION:

Esterilizar a 121°C, durante 15 minutos, inclinar los tubos de tal manera que queden con 2.5 cm. de fondo y 3.5 cm. de tendido.

Es necesario realizar un control de calidad con cepas conocidas: *E. coli*, *Salmonella*, *Proteus*; si no hay reacciones positivas características entonces debe desecharse.

Anexo D. Agar lisina hierro (LIA):

Medio con el cual se observa la capacidad del microorganismo para decarboxilar la lisina, deaminar la lisina y la producción de ácido sulfhídrico, además de la producción de gas.

COMPOSICION:

- Peptona 5.0 g
- Extracto de levadura 3.0 g
- Glucosa 1.0 g
- Lisina 10.0 g
- Citrato ferrico de amonio 0.5 g
- Tiosulfato de sodio 0.04 g
- Púrpura de bromocresol 0.02 g
- Agar 15.0 g
- Agua destilada 1000 ml
- Ajustar el pH a 6.7

PREPARACIÓN:

Se esteriliza a 121°C por 12 minutos. Se inclina los tubos de tal manera que queden 2.5 cm. de fondo y 3.5 cm. de tendido.

Cada lote de medio debe probarse con cepas conocidas: *E coli*, *Salmonella* y *Proteus*, si no se obtienen resultados característicos entonces se debe desechar.

Anexo E. Agar Urea:

Con ésta prueba se determina la capacidad del microorganismo para desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoniaco por acción de la enzima ureasa.

COMPOSICION:

- Peptona 1.0 g
- Cloruro de sodio 5.0 g
- Glucosa 1.0 g
- Fosfato de potasio monobásico 2.0 g
- Rojo de fenol 0.012 g
- Urea 20.0 g
- Agua destilada 1000 ml
- Ajustar el pH 6.8 – 6.9 y esterilizar por filtración.

PREPARACION:

Se disuelven 15 g de Agar en 900 ml de agua destilada y esterilizar por 15 minutos a 121°C.

Enfriar a 50-55°C. Agregar 100 ml de la solución filtrada. Mezclar y distribuir en tubos estériles con tapa de rosca.

Anexo F. Agar Citrato de Simmons:

Con esta prueba se determina si el microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono.

COMPOSICION:

• Cloruro de sodio	5.0 g
• Sulfato de magnesio	0.2 g
• Fosfato ácido de amonio	1.0 g
• Fosfato dipotásico	1.0 g
• Citrato de sodio	2.0 g
• Agar	20.0 g
• Agua destilada	1000 ml

Agregar 40 ml de la solución a 1: 500 de azul de bromotimol como indicador. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Inclinar los tubos para obtener 2.5 cm. de fondo y 3.5 cm. de tendido.

Anexo G. Técnica semicuantitativa de Maki.

Técnica realizada por Denis Maki en el año de 1977(New. Engla.J.Med.1977) en la cual se propone el cultivo por rodamiento de la punta de catéter sobre una placa de agar, con recuento posterior de unidades formadoras de colonias, estableciendo un punto de corte de 15 unidades para el diagnóstico de colonización del catéter. Desde esa fecha se ha considerado la técnica de referencia.

Por medio de esta técnica semicuantitativa es posible diferenciar si existe colonización del catéter o infección del mismo, dado que Maki y otros colaboradores demostraron que la colonización de la piel y la progresión de los microorganismos por la superficie externa del catéter es el origen más frecuente de infecciones intra hospitalarias asociadas a catéteres.

Técnica de Maki:

Para determinación de gérmenes intraluminales.

- Se rota el catéter sobre agar sangre y EMB.
- Se somete a incubación a 37° C 5% de CO₂ por 24-48 Horas.
- Se realiza el recuento de colonias
- Se toma como contaminación cuando existen menos de 15 UFC.
- Se considera colonización cuando hay más de 15 UFC.