



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“RESISTENCIA BACTERIANA EN PACIENTES ATENDIDOS CON
GASTROENTERITIS POR *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL
CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA, DEL CANTÓN EL CHACO”.**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico.

Autor: Gallegos Torres, Franklin Iván

Tutora: Bioq. Guaygua Silva, Ana Gabriela

Ambato – Ecuador

Diciembre 2014

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“RESISTENCIA BACTERIANA EN PACIENTES ATENDIDOS CON GASTROENTERITIS POR *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA, DEL CANTÓN EL CHACO” de Franklin Iván Gallegos Torres, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Agosto del 2014

LA TUTORA

.....
Bioq. Guaygua Silva, Ana Gabriela

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación “**RESISTENCIA BACTERIANA EN PACIENTES ATENDIDOS CON GASTROENTERITIS POR *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA, DEL CANTÓN EL CHACO**”, como también los contenidos, análisis, conclusiones y propuesta son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor del trabajo.

Ambato, Agosto del 2014

EL AUTOR

.....
Gallegos Torres, Franklin Iván

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi tesis, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Agosto del 2014

EL AUTOR

.....
Gallegos Torres, Franklin Iván

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema: **“RESISTENCIA BACTERIANA EN PACIENTES ATENDIDOS CON GASTROENTERITIS POR *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA, DEL CANTÓN EL CHACO”**, de Gallegos Torres Franklin Iván, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Diciembre del 2014

Para constancia firman:

.....
PRESIDENTA/E

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

A Dios por haberme brindado la oportunidad de vivir y bendecirme con una familia maravillosa. A mis padres, quienes me dieron la vida y han estado conmigo en los momentos que más necesite, por su apoyo incondicional y por sus sabios consejos. A mis hermanos, por ser mis mejores amigos y por sus voces de aliento aún a la distancia. Finalmente a mi novia María José Fray quien fue mi mayor motivación para culminar con el informe de investigación.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por mostrarme el camino correcto para alcanzar mis objetivos y culminar con éxito esta carrera profesional.

A mis Padres quienes a lo largo de toda la vida han apoyado y motivado mi formación académica.

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, a los Docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico, a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza.

A mi Tutora de tesis, Dra. Gabriela Guaygua por su tiempo dedicado, por su guía y sabios consejos.

A mis hermanos: Fernando, Michael y Diana, por su apoyo a la distancia, su paciencia y ejemplo de superación.

A mi novia María José Fray por ser mi ángel, mi fortaleza y motivación para culminar la fase final de la tesis, y en especial por su apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS PÁGINAS PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	vi
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.- Tema de Investigación	2
1.2.- Planteamiento del Problema.....	2
1.2.1.- Contextualización.....	2
1.2.1.1.- Macro.....	2
1.2.1.2.- Meso.....	4
1.2.1.3.- Micro.....	4
1.2.2.- Análisis Crítico.....	5
1.2.3.- Prognosis.....	5
1.2.4.- Delimitación.....	6
1.2.5.- Formulación del problema.....	6
1.2.6.- Preguntas directrices.....	6
1.3.- Justificación.....	7
1.4.- Objetivos.....	7
1.4.1.- Objetivo General.....	7
1.4.2.- Objetivos específicos.....	8

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.- Antecedentes Investigativos.....	9
2.2.- Fundamentación filosófica.....	10
2.2.1.- Fundamentación epistemológica.....	11

2.2.2.- Fundamentación axiológica.....	11
2.3.- Fundamentación legal.	11
2.4.- Categorías fundamentales	17
2.4.1.- Bacterias Enteropatógenas.....	18
2.4.1.1.- Bacterias causantes de Enfermedades Gastrointestinales	18
2.4.1.1.1.- <i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga (STEC).....	18
2.4.1.1.2.- <i>Salmonella spp.</i>	20
2.4.1.1.3.- <i>Campylobacter spp.</i>	20
2.4.1.1.4.- <i>Clostridium perfringens</i>	21
2.4.1.1.5.- <i>Staphylococcus aureus.</i>	22
2.4.2.- Factores de Virulencia.....	22
2.4.3.- Resistencia Bacteriana.....	25
2.4.3.1.- Tipos de Resistencia.	26
2.4.3.2.- Mecanismos de resistencia.....	26
2.4.3.2.1.- Destrucción e inactivación del antibiótico	27
2.4.3.2.2.- Barreras de permeabilidad.....	29
2.4.3.2.3.- Alteración del sitio blanco	30
2.4.4.- Enfermedades Gastrointestinales.....	30
2.4.4.1.- Diarrea Infecciosa.	33
2.4.4.1.1.- La diarrea secretora	33
2.4.4.1.2.- La diarrea inflamatoria.....	33
2.4.4.1.3.- La diarrea hemorrágica	34
2.4.5.- Trastornos de la Digestión y Absorción.	34
2.4.5.1.- Gastroenteritis.....	35
2.4.5.1.1.- Etiología.	35
2.4.5.1.2.- Fisiopatología.....	38
2.4.5.1.3.- Transmisión.....	38
2.4.5.1.4.- Cuadro clínico.	39
2.4.5.1.5.- Diagnóstico.	40
2.4.5.1.6.- Deshidratación.....	40
2.4.6.- Gastroenteritis por <i>Salmonella spp.</i>	40
2.4.6.1.- <i>Salmonella spp.</i>	41
2.4.6.1.1.- Transmisión.....	42
2.4.6.1.2.- Patogenicidad.	43
2.4.6.1.3.- Enriquecimiento.	43
2.4.6.1.4.- Coprocultivo.....	44
2.4.6.1.5.- Procedimiento técnico a realizarse para el coprocultivo.....	44
2.5.- Hipótesis.....	45

2.6.- Señalamiento de variables de la hipótesis.....	45
2.7.1.- Variable independiente.....	45
2.7.2.- Variable dependiente.....	45

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1.- Enfoque de la investigación.....	46
3.2.- Modalidad básica de la investigación.....	46
3.2.1.- De Campo.-.....	46
3.2.2.- Bibliográfica - documental.-.....	46
3.3.- Nivel de la investigación.....	46
3.3.1.- Nivel exploratorio.-	47
3.3.2.- Nivel descriptivo.-	47
3.3.3.- Asociación de variables.-	47
3.4.- Población y muestra.....	47
3.4.1.- Población	47
3.4.2.- Muestra	47
3.5.- Operacionalización de variables	48
3.5.1.- Variable Dependiente: Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp.....	48
3.5.2.- Variable Independiente: Resistencia bacteriana.....	49
3.6.- Recolección de información.....	50
3.7.- Procesamiento y análisis.....	51
3.7.1.- Examen coprológico y coproparasitario.....	51
3.7.1.1.- Examen macroscópico (físico):	51
3.7.1.2.- Examen Microscópico:	52
3.7.1.3.- Examen parasitológico:.....	53
3.7.1.3.1.- Nematodos: Gusanos redondos	53
3.7.1.3.2.- Cestodos: Gusanos planos.....	53
3.7.1.3.3.- Protozoarios:	53
3.7.1.- Examen Microbiológico.....	54
3.7.1.1.- Preparación de agares y medios.....	54
3.7.1.1.1.- Agar MacConkey:	54
3.7.1.1.2.- Agar SS (<i>Salmonella Shigella</i>):	54
3.7.1.1.3.- Caldo selenito:.....	54
3.7.1.1.4.- Agar Mueller Hinton:	54
3.7.1.1.5.- Medio Sulhídrico Indol Movilidad (SIM):	55
3.7.1.1.6.- Urea Agar base:.....	55
3.7.1.1.7.- Agar de Citrato de Simmons:	55
3.7.1.1.8.- Medio Voges Proskeuer-Rojo de metilo (MR-VP):	55

3.7.1.1.9.- Agar Lisina:.....	55
3.7.1.1.10.- Agar Triple Azúcar Hierro (TSI):	56
3.7.1.2.- Técnica de siembra del Coprocultivo:	56
3.7.1.3.- Identificación bacteriana:.....	56
3.7.1.4.- Tinción Gram:.....	56
3.7.1.5.- Pruebas bioquímicas:	57
3.7.1.5.1.- Prueba de SIM.....	57
3.7.1.5.2.- Prueba de Urea.....	58
3.7.1.5.3.- Prueba de Citrato de Simons.....	59
3.7.1.5.4.- Prueba de MR-VP.....	59
3.7.1.5.5.- Prueba de Lisina.....	61
3.7.1.5.6.- Prueba de TSI.....	61
3.7.1.6.- Antibiograma - Método de Difusión del Disco en Agar (Baüer y Kirby).....	63
3.7.1.6.1.- Fundamento.....	63
3.7.1.6.2.- Ejecución.....	65
3.7.1.6.3.- Reporte de los Resultados.....	69

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.- Análisis e interpretación.....	71
Encuesta dirigida a los pacientes con Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp. atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María.....	72
Análisis de Factores no modificables.....	82
Análisis de la resistencia y sensibilidad de los fármacos en el antibiograma	84
Ampicilina/Sulbactam	84
Gentamicina.....	85
Ciprofloxacina	86
Clotrimoxazol (sulfametoxazol + Trimetoprim).....	87
Ceftriaxona.....	88
Cloranfenicol	89
4.2.- Verificación de la Hipótesis.....	91

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.- Conclusiones.....	92
5.2.- Recomendaciones.....	93

CAPÍTULO VI

PROPUESTAS

6.1.- Datos informativos	95
6.2.- Antecedentes de la Propuesta.....	96
6.3.- Justificación.....	96
6.4.- Objetivos	97
6.4.1.- Objetivo General	97
6.4.2.- Objetivos Específicos	97
6.5.- Factibilidad.....	97
6.6.- Fundamentación Científica Técnica.....	98
6.7.- Administración de la Propuesta	99
6.8.- Modelo Operativo.	100
6.9.- Plan de Monitoreo y Evaluación.	101
<i>BIBLIOGRAFÍA:</i>	107
<i>ANEXOS</i>	108

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Categorías fundamentales.....	17
Gráfico 2. Prueba de SIM.....	58
Gráfico 3. Prueba de Ureasa.....	58
Gráfico 4. Prueba de Citrato de Simons.....	59
Gráfico 5. Prueba de Voges-Proskauer (VP).....	60
Gráfico 6. Prueba de Rojo de Metilo.....	60
Gráfico 7. Prueba de Lisina.....	61
Gráfico 8. Prueba de TSI.....	62
Gráfico 9. Estandarización del inóculo.....	66
Gráfico 10. Inoculación de los Medios de Cultivo.....	67
Gráfico 11. Colocación de Discos.....	67
Gráfico 12. Lectura de Halos de Inhibición.....	69
Gráfico 13. Disponibilidad de Agua Potable.....	72
Gráfico 14. Ingestión de alimentos en la calle.....	73
Gráfico 15. Ha recibido charlas sobre higiene y cuidado de los alimentos.....	74
Gráfico 16. Antecedentes de cuadros diarreicos.....	75
Gráfico 17. Familiares que han padecido de cuadros diarreicos recientes.....	76
Gráfico 18. En caso de padecer cuadros diarreicos que prefiere usted.....	77
Gráfico 19. Conoce las complicaciones de NO recibir tratamiento.....	78
Gráfico 20. Cumple a cabalidad el tratamiento indicado por el médico.....	79
Gráfico 21. Recuperación satisfactoria al culminar el tratamiento.....	80
Gráfico 22. Conoce que factores influye en la resistencia bacteriana.....	81

Gráfico 23. Análisis del género en pacientes con Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp.....	82
Gráfico 24. Distribución de pacientes con Salmonelosis por edades.....	83
Gráfico 25. Ampicilina/Sulbactam.....	84
Gráfico 26. Gentamicina.....	85
Gráfico 27. Ciprofloxacina.....	86
Gráfico 28. Sulfametoxazol + Trimetoprim.....	87
Gráfico 29. Ceftriaxona.....	88
Gráfico 30. Cloranfenicol.....	89
Gráfico 31. Relación de Sensibilidad y Resistencia Antimicrobiana.....	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Variable Dependiente: Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp.....	48
Tabla 2.- Variable Independiente: Resistencia Bacteriana.....	49
Tabla 3.- Características de las Pruebas Bioquímicas para Identificación Bacteriana.....	62
Tabla 4.- Características de las Pruebas Bioquímicas para Identificación de <i>Salmonella</i>	63
Tabla 5. Disponibilidad de Agua Potable.....	72
Tabla 6. Ingestión de alimentos en la calle.....	73
Tabla 7. Ha recibido charlas sobre higiene y cuidado de los alimentos que ingiere.....	74
Tabla 8. Antecedentes de cuadros diarreicos.....	75
Tabla 9. Familiares que han padecido de cuadros diarreicos recientes.....	76
Tabla 10. En caso de padecer cuadros diarreicos que prefiere usted.....	77
Tabla 11. Conoce las complicaciones de NO recibir tratamiento.....	78
Tabla 12. Cumple a cabalidad el tratamiento indicado por el médico.....	79
Tabla 13. Recuperación satisfactoria al culminar el tratamiento.....	80
Tabla 14. Conoce que factores influyen en la resistencia bacteriana.....	81
Tabla 15. Análisis del género en pacientes con Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp..	82
Tabla 16. Distribución de pacientes con Salmonelosis por edades.....	83
Tabla 17. Ampicilina/Sulbactam.....	84
Tabla 18. Gentamicina.....	85
Tabla 19. Ciprofloxacina.....	86

Tabla 20. Sulfametoxazol + Trimetoprim.....	87
Tabla 21. Ceftriaxona.....	88
Tabla 22. Cloranfenicol.....	89
Tabla 23. Relación de Sensibilidad y Resistencia Antimicrobiana.....	90
Tabla 24. Modelo Operativo.....	100
Tabla 25. Evaluación.....	101

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“RESISTENCIA BACTERIANA EN PACIENTES ATENDIDOS CON GASTROENTERITIS POR *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA, DEL CANTÓN EL CHACO”.

Autor: Gallegos Torres, Franklin Iván

Tutora: Bioq. Guaygua Silva, Ana Gabriela

Fecha: Agosto del 2014

RESÚMEN

La presente investigación se enfocó en la resistencia bacteriana en pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. Esta es una patología que puede afectar a pacientes de toda edad, género y estrato social, por lo cual se considera como una problemática para la salud pública. Su transmisión puede ocurrir mediante el consumo de alimentos preparados inadecuadamente, de agua contaminada o a través del contacto físico con personas infectadas.

Se realizó una investigación de campo, exploratorio descriptivo, asociando la variable dependiente con la independiente con un tipo de estudio prospectivo. Para la recopilación de la información se analizó las muestras de heces fecales de 30 pacientes con Gastroenteritis Agudas positivas para *Salmonella* spp., que era la población en estudio, mediante análisis de Laboratorio como el examen coprológico y coproparasitario, se realizó un tamizaje con el fin de descartar otros agentes causantes de gastroenteritis, posteriormente se hizo el correspondiente coprocultivo para verificar o descartar si la bacteria causante de la patología es la *Salmonella* spp; consecutivamente a esto realizamos el antibiograma para determinar la resistencia

que presenta este microorganismo ante antibióticos de distintas familias como son la Ampicilina/Sulbactam, Gentamicina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Trimetoprim/sulfametoxazol.

Con la finalidad de obtener información de los posibles factores de riesgo para contraer esta patología y determinar las causas por las cuales se puede desarrollar el fenómeno de la resistencia bacteriana se empleó la técnica de la encuesta a los pacientes en estudio, lo que evidenció que la falta de un servicio básico en los hogares como es el agua potable, así como el hábito de comer fuera de casa predisponen directamente a padecer enfermedades gastrointestinales; además se constató que el incumplimiento del tratamiento administrado por el médico, ya sea en el tiempo o en la dosis sugerida; el desconocimiento de las complicaciones que produce este y en especial la automedicación son los principales predisponentes para la resistencia bacteriana.

De acuerdo a los antibiogramas realizados a los coprocultivos los antibióticos presentaron la siguiente resistencia: Ampicilina/Sulbactam (33,33%); Gentamicina (13,33%), Ciprofloxacina (40%), Sulfametoxazol/Trimetoprim (40%), Ceftriaxona (6,66%) y Cloranfenicol (16.66%). Mediante este estudio microbiológico se identificó que la ciprofloxacina y el sulfametoxazol/trimetoprim son los principales agentes antimicrobianos a los cuales presentó resistencia las cepas de *Salmonella* spp. aislada en pacientes con Gastroenteritis, para lo cual es indispensable que se implemente el laboratorio de Microbiología en el Hospital Corazón Inmaculado de María para evitar el uso indiscriminado de antibióticos y minimizar el número de fracasos en el tratamiento de patologías infecciosas.

PALABRAS CLAVE: *SALMONELLA*, MICROORGANISMOS, ENFERMEDADES_GASTROINTESTINALES, RESISTENCIA_BACTERIANA, ANTIBIÓTICOS.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

CLINICAL LABORATORY CAREER

**“BACTERIAL RESISTANCE IN PATIENTS TREATED WITH *SALMONELLA*
SPP. GASTROENTERITIS IN THE CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA
HOSPITAL, THE CANTÓN EL CHACO”**

Author: Gallegos Torres, Franklin Iván

Tutor: Bioq. Guaygua Silva, Ana Gabriela

Date: Ambato; August 2014

SUMMARY

This research was focused on bacterial resistance in patients treated with Gastroenteritis by *Salmonella* spp. This is a pathology that it can affect to patients all of ages, gender and social stratum. Therefore, it is considered a public health problem. Its transmission can be happened by eating improperly prepared food, polluted water or physical contact with infected people.

Field research and descriptive exploratory was carried out by associating the dependent variable and independent variable with a type of prospective study. For gathering information, fecal samples of 30 patients with positive Acute Gastroenteritis for *Salmonella* spp. were analyzed, those was the study population. Through laboratory analysis as a screening fecal examination was carried out in order to exclude other causative agents of gastroenteritis, and then the corresponding coprocultivo was done to verify or rule out the bacteria that causes the disease *Salmonella* spp.; following this research, sensitivity testing was realized to determine

the resistance of the microorganism to antibiotics from different families for instance, the Ampicillin/Sulbactam, Gentamicin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, Ceftriaxone, Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

With the aim of obtaining information on potential risk factors for developing this disease and identifying reasons why the phenomenon may develop bacterial resistance the survey technique was used to study patients with this disease, which it showed that the lack of basic services at home such as safe drinking water, as well as the habit of eating out, it directly helped to develop into gastrointestinal diseases. Also this research found that the failure of the treatment had been given by the doctor, either over time or in the suggested dose. Lack of knowledge of complication that it produced and specially self-medication are the main predisposing to bacterial resistance.

According to the conducted susceptibility to antibiotics fecal cultures showed the following resistance: Amplicina / Sulbactam (33.33%); Gentamicin (13.33%), ciprofloxacin (40%), sulfamethoxazole / trimethoprim (40%), Ceftriaxone (6.66%) and Chloramphenicol (16.66%). By this microbiological study was identified that ciprofloxacin and sulfamethoxazole / trimethoprim are the main antimicrobial agents to which strains were resistant *Salmonella* spp. isolated in patients with gastroenteritis. For that reason, it is very important to implement a Microbiology Laboratory in the Corazon Inmaculado de Maria Hospital in order to avoid the indiscriminate use of antibiotics and minimize the number of failures in the treatment of infectious diseases.

KEYWORD: *SALMONELLA*, ANTIMICROBIAL, DISEASES, ANTIBIOTICS, FECAL, BACTERIAL_ RESISTANCE.

INTRODUCCIÓN

La actual investigación se enfocó en la resistencia bacteriana que presentaron los pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. Las infecciones gastrointestinales, representan a nivel mundial unas de las mayores causas de morbi-mortalidad, principalmente en los países subdesarrollados, siendo comunes en aquellas poblaciones con escasas condiciones socio-sanitarias como es la provincia de Napo, en especial el cantón El Chaco; ya que esta es una patología que puede afectar a pacientes de toda edad, género y estrato social, se la considera como una problemática para la salud pública.

Ha pasado más de un siglo desde que *Salmonella* fue aislada y reconocida como el agente causal de la fiebre tifoidea en humanos y, sin embargo, los mecanismos de virulencia de esta bacteria no han sido entendidos del todo aún. Algunas de las manifestaciones son producidas por la liberación de una endotoxina la cual tiene diversos efectos biológicos, incluyendo la inducción de fiebre, hipotensión arterial entre otros signos y síntomas.

Durante la investigación se plantearon objetivos claros con la finalidad de identificar a que antibióticos presenta mayor porcentaje de resistencia antimicrobiana en casos de Gastroenteritis por *Salmonella* spp.; además de conocer la incidencia que tiene esta patología en la población del cantón y sus alrededores; también sirvió para estar al tanto de los hábitos y costumbres que predominan en los pacientes, los mismos que se convierten en factores predominantes para la aparición de resistencia bacteriana.

Cabe recalcar que el estudio de investigación se efectuó solo a pacientes que presentaron Gastroenteritis por *Salmonella* spp., la misma que se identificó por medio del coprocultivo, siguiendo todos las normas y procedimientos indicados por el Manual de protocolo de microbiología (CLSI).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.- Tema de Investigación

“Resistencia Bacteriana en pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María, del cantón El Chaco”.

1.2.- Planteamiento del Problema

1.2.1.- Contextualización.

1.2.1.1.- Macro.

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública, en este caso se presentan los resultados de la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Vibrio cholerae*, entre los años 1997 y 2002 de las cepas confirmadas por el Instituto Nacional de Salud, procedentes de los laboratorios referenciales regionales de las diferentes direcciones de salud del Perú. La confirmación se realizó mediante bioquímica y serotipificación, para las pruebas de sensibilidad se utilizó el método de disco difusión. Se evaluaron un total de 542 cepas de *Salmonella* spp., 1034 de *Shigella* spp. y 603 de *Vibrio cholerae*.

La resistencia de *Shigella* frente a ampicilina muestra un promedio de 74,4% durante los 6 años; cloramfenicol con 65,9 %, cotrimoxazol con 72,2 %. En *Salmonella* se observa un promedio de 3,46 % para ampicilina; 2,83 % para cloranfenicol; en gentamicina 3,9 % y cotrimoxazol 1,1. *V. cholerae* entre 1997 y 1999 mostraron promedios de resistencia de 19% a cotrimoxazol, 12,1 % a tetraciclina y 10,2 % a ampicilina.

A partir del año 2000, no se reportaron casos, por lo que se recibieron pocas cepas de esta especie. Se evidencia el problema de resistencia de *Shigella* frente a ampicilina, cloranfenicol y cotrimoxazol. (Arias Bustamante & Meza, 1997-2002)

Las infecciones gastrointestinales, representan a nivel mundial unas de las mayores causas de morbi-mortalidad, principalmente en los países subdesarrollados, siendo comunes en aquellas poblaciones con escasas condiciones socio-sanitarias como la población indígena de Santa Rosa. El propósito de esta investigación fue detectar la presencia de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras fecales en la población de Santa Rosa. Se procesaron 245 muestras de heces de individuos entre edades comprendidas entre 2 meses a 83 años con o sin diarrea, en los cuales se realizó la técnica del coprocultivo y las pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos siguiendo la metodología descrita por el CLSI. Del total de muestras procesadas, 7 de ellas (2,9%) resultaron positivas para los géneros *Salmonella* y *Shigella*. *Salmonella* se detectó en 85,7%, identificándose serogrupos *Salmonella enterica* grupo B en 66,7% y *Salmonella enterica* grupo C1 en 33,3%; mientras que *Shigella* se aisló en un 14,3%, siendo *S. flexneri* la única especie encontrada. En las pruebas de resistencia antimicrobiana para *Salmonella* resultó ser resistente a Ampicilina, Tetraciclina y Amoxicilina/ Acido Clavulánico con un 16,7% para cada uno. *Shigella* mostró un patrón de resistencia a Ampicilina, Tetraciclina, Cloranfenicol, Amoxicilina /Acido Clavulánico y Trimetoprim Sulfametoxazol. A pesar de la precarias condiciones del sector de Santa Rosa, la incidencia de patógenos bacterianos es baja, en comparación a otros sectores con características similares de vida. (Sandrea Toledo, y otros, 2007)

En la investigación desarrollada por Meakins *et al.*, (2008) durante el periodo de 2000-2004 se lograron aislar varios serotipos de *Salmonella* no tifoidea (134,000 aislamientos) en diez países de la Unión Europea, demostrándose al concluir el estudio que la resistencia de estos microorganismos aumentó del 57% al 66% en los once antimicrobianos utilizados. La resistencia fue significativa a ácido nalidíxico (del 14 al 20%), particularmente por *S. enteritidis*. En años recientes se ha detectado

una multiresistencia de *S. typhimurium* a antibióticos de elección incluyendo las fluorquinolonas (Rivera Calderón, Motta Delgado, Cerón Urbano, & Chimonja Coy, 2012)

En el estudio realizado por Barreto Argilagos, Guillermo, Sedrés Cabrera, Martha, and Rodríguez Torrens, Herlinda, para establecer la incidencia de los agentes bacterianos en los brotes de Enfermedad transmitida por alimentos en la ciudad de Camagüey, se procesó la información recogida en la Sección de Microbiología Sanitaria del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología correspondiente al período 2000-2008. De los 187 brotes estudiados a partir de alimentos, en 173 (92,51%) se aislaron bacterias capaces de provocar ETA. *Staphylococcus aureus* (56 %) prevaleció con respecto a *Salmonella* (27%), de la que difiere estadísticamente, y ambos de *Bacillus cereus*, *Aeromonas*, *Vibrio* y *Escherichia coli*, que, aunque en menores proporciones constituyen un riesgo. *S aureus* y *Salmonella* prevalecieron en productos de repostería, embutidos, ahumados y otros a base de leche, carne, huevos y pescados (Barreto Argilagos, 2000-2008)

1.2.1.2.- Meso.

Red Nacional de Resistencia Bacteriana de Ecuador (REDNARBEC) creada en el año 1999 es la organización que ha presentado datos de resistencia bacteriana tanto a nivel comunitario como hospitalario en el Ecuador. Los últimos datos disponibles del año 2008, reportan que a nivel comunitario la resistencia de *Shigella spp.* a tetraciclina fue del 96% y a ampicilina 93%, *Salmonella sp.p* fue resistente a tetraciclina en un 30%. *Escherichia coli* era resistente a ampicilina y tetraciclina en un 71%, *Staphylococcus aureus* era resistente a eritromicina en un 30% y oxacilina en un 25%. (Quizhpe, Murray, Muñoz, Peralta, & Calle, 2011)

1.2.1.3.- Micro.

Durante el año 2013 en el Hospital Corazón Inmaculado de María Cantón El Chaco, sólo en el área de hospitalización se registra un aproximado de 450 casos de

Gastroenteritis Bacteriana Aguda, de los cuales un 45% se presume el agente etiológico es la bacteria *Salmonella* spp.; mientras que en el transcurso del mes de Enero del presente año se han presentado 77 casos de esta enfermedad, según los datos obtenidos en los registros del Informe Estadístico de Egresos Hospitalarios del Departamento de Vigilancia Epidemiológica del Área de Salud N° 2; convirtiéndose en una de las patologías con mayor prevalencia en el porcentaje anual de hospitalizados.

1.2.2.- Análisis Crítico

Una de las principales causas para generar el fenómeno la resistencia antimicrobiana es el uso indiscriminado de antibióticos sin previo coprocultivo y antibiograma para determinar la sensibilidad de los agentes patógenos, por la urgencia de dar un tratamiento ante un cuadro clínico agudo que presenten los pacientes.

Generalmente la resistencia bacteriana se da por el incumplimiento en el tiempo y la dosis del tratamiento de fármacos de primera elección que son específicos para *Salmonella*, por lo cual es necesario emplear nuevos protocolos de administración de antibióticos para Gastroenteritis Bacteriana Aguda (GEBA) en el Hospital Corazón Inmaculado de María (HCIM).

En la provincia de Napo dado la situación geográfica y la poca accesibilidad es complicado acudir fácilmente a las casas de Salud, por lo cual en muchos de los casos el paciente no llega a tener un tratamiento adecuado, reinfectándose haciendo más difícil el tratamiento para lo cual es necesario utilizar antibióticos de amplio espectro muchos de los cuales son tóxicos y tienen efectos secundarios para el paciente.

1.2.3.- Prognosis.

La Bacteria *Salmonella* spp. por estar entre las más tóxicas y siendo una de las principales causantes de gastroenteritis, es necesario que el tratamiento sea lo más específico ya que al emplear un medicamento al cual sea resistente, el médico estará

disminuyendo aún más la susceptibilidad ante los antibióticos, complicando la recuperación y produciendo cepas de esta bacteria con multiresistencia, incrementando la frecuencia de fracasos en el tratamiento y una mayor gravedad de la infección lo cual puede manifestarse por una duración prolongada de la enfermedad, mayor reiteración de infecciones del torrente sanguíneo (septicemia), afectando la economía y el bienestar del paciente; y en algunos casos hasta la muerte.

1.2.4.- Delimitación.

- ✓ **Temporal:** Periodo Diciembre 2013-Junio 2014.
- ✓ **Espacial:** Hospital Corazón Inmaculado de María, El Chaco.
- ✓ **Delimitación de contenidos:** Área de Bacteriología
- ✓ **Aspecto:** Resistencia bacteriana.
- ✓ **Objeto de estudio:** Todos los pacientes de 18 a 50 años de edad que son atendidos en el Hospital con Diagnóstico de Gastroenteritis por *Salmonella* spp. durante el periodo de Abril – Junio 2014.

1.2.5.- Formulación del problema.

¿Cuál es la resistencia bacteriana en pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María del Cantón El Chaco?

1.2.6.- Preguntas directrices.

¿Cuál es la incidencia de Gastroenteritis Bacteriana en pacientes atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María?

¿Cuáles son los principales antibióticos que presentan resistencia a *Salmonella* spp. en pacientes con Gastroenteritis?

¿Se podrá solucionar este problema de investigación?

1.3.- Justificación.

Aunque la resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno biológico natural, se convierte en un problema significativo para la salud pública cuando se ve exacerbado por el abuso y el mal empleo de los antibióticos en el tratamiento de las enfermedades para lo cual el presente trabajo de investigación está enfocado en ayudar con un tratamiento eficaz para los pacientes con diagnóstico de Gastroenteritis por *Salmonella* spp. con el fin de minimizar recursos innecesarios para los mismos; debido a que la resistencia antimicrobiana es uno de los problemas emergentes de salud a escala mundial y además que esta patología tiene altos índices de morbi-mortalidad en el mundo y en especial en países en vías de desarrollo, y en zonas tropicales húmedas como lo es la provincia de Napo.

Esta investigación es factible su realización ya que cuenta con el apoyo técnico y humanístico, tanto del Hospital Corazón Inmaculado de María en donde se obtiene la población en estudio, y del Hospital Estatal de Baeza en el cual se realizará la parte técnica como es el cultivo y antibiograma de las muestras recolectadas, el mismo que cuenta tanto con los equipos y materiales necesarios, así como el personal perfectamente capacitado para apoyar en cualquier duda o imprevisto que se suscite durante el desarrollo de la investigación.

Este trabajo de investigación contribuye al conocimiento y establecimiento de nuevas estrategias en el protocolo, con el fin de disminuir el número de fracasos en el tratamiento contra las Enfermedades Gastrointestinales como la Salmonelosis.

1.4.- Objetivos.

1.4.1.- Objetivo General.

Determinar la resistencia bacteriana en pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María del cantón El Chaco.

1.4.2.- Objetivos específicos.

- Determinar la incidencia de pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María del Cantón El Chaco.
- Identificar los principales antibióticos a los cuales presenta resistencia la *Salmonella* spp. en pacientes con Gastroenteritis.
- Proponer una solución al problema de investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.- Antecedentes Investigativos.

Silvia Balbachán, Luis Merino, Daniel Merino, Mariana Balbachán, Olga Miranda (2004-2005). Con el presente trabajo de investigación los doctores pretendieron generar conocimientos sobre la etiología de las gastroenteritis bacterianas en la región y, mediante el análisis de la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias enteropatógenas más prevalentes, contribuir a optimizar la atención médica mediante la utilización racional de la medicación y de esta manera evitar la distorsión del gasto en salud pública.

Se recolectaron muestras de heces de pacientes pediátricos provenientes de la consulta externa de Centros de Atención Primaria de la Salud (CAPS) de la municipalidad de Corrientes. Se recolectaron muestras de materia fecal de niños menores de 5 años con diarrea aguda, en Corrientes, se cultivaron en medios selectivos, se identificaron colonias sospechosas de *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Shigella* o *Escherichia coli* O157 y se estudió la susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión con discos. De 590 muestras 7,7 % fueron positivas (*Salmonella* spp. 32,6 % y *Shigella* spp. 67,4 %). Sobre 31 aislamientos de *Shigella*, 81 % correspondió a *S. flexneri*, y 19 % a *S. sonnei*. El serotipo 2 de *Shigella flexneri* fue el más frecuente. Las cepas de *S. flexneri* mostraron mayor multirresistencia que las de *S. sonnei*. Los serotipos de *Salmonella enterica* más frecuentes fueron *S. typhimurium* y *S. newport*. Dos aislamientos de *Salmonella* presentaron multirresistencia. El presente trabajo constituyó un aporte al conocimiento de la etiología de las gastroenteritis bacterianas en la región y alertó acerca del surgimiento de cepas enteropatógenas multirresistentes.

Alvarado, Luzmila, Guzmán, Yoli, Guzmán, Militza y Betancourt José (2005) La investigación realizada por los doctores de la Universidad de Oriente con el propósito de determinar la presencia de aislados de *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* y su asociación con manifestaciones clínicas de síndrome diarreico agudo, en niños menores de seis años de edad, se analizaron mediante coprocultivos 96 muestras de heces, entre los meses de julio a octubre de 2002, procedentes de pacientes, asistidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná-estado Sucre. Se obtuvieron 50 casos positivos (52,08%); de los cuales 16,00% correspondieron a *Shigella spp.* aislándose *Shigella sonnei* en 50,00% mientras que *Salmonella spp.* se identificó en el 10,00% de los aislamientos. *Salmonella agona* y *Salmonella enteritidis* presentaron una frecuencia de 40,00%. En relación a *Shigella spp.*, el análisis estadístico mostró una asociación altamente significativa ($p < 0,001$) y significativa ($p < 0,05$) en los pacientes con disentería y pujo, respectivamente.

Así mismo, los resultados indican que existe asociación estadística muy significativa ($p < 0,01$) entre la presencia de *Salmonella spp.* y el dolor abdominal y, asociación significativa ($p < 0,05$) con la manifestación de pujo y fiebre. La actividad antimicrobiana in vitro, mostró que *Shigella spp.* presentó 62,50% de resistencia para ampicilina y 12,50% para cloranfenicol *Salmonella spp.* fue resistente en un 20,00% a ampicilina, ciprofloxacina y gentamicina.

2.2.- Fundamentación filosófica

El trabajo investigativo es crítico y propositivo: Crítico porque la investigación se basa en la realidad social que viven a diario los pacientes con Gastroenteritis atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María del Cantón El Chaco, pues siendo la bacteria *Salmonella spp.* una de las principales causante de GEBA es necesario que los medicamentos empleados sean los más específicos posibles para evitar así la resistencia bacteriana.

Propositivo porque esta investigación tiene el propósito de buscar alternativas terapéuticas para aquellos pacientes que ya presentan resistencia bacteriana, ayudando a reintegrarse a sus labores evitando las posibles recaídas por esta enfermedad y sus posibles complicaciones posteriores.

2.2.1.- Fundamentación epistemológica

Es epistemológico porque al tratar con técnicas y procedimientos científicos estandarizados. Tanto con equipos como materiales certificados, obtenemos datos reales de la resistencia bacteriana a *Salmonella spp.*, en muestras de heces, sembradas en agar *Salmonella Shigella (SS)*, encubadas en la estufa a 37°C de 24 a 48 horas, el antibiograma se realizará en agar Muller Hilton.

2.2.2.- Fundamentación axiológica

Durante el desarrollo de esta investigación como un profesional de la salud tengo la obligación moral de la confiabilidad de los resultados del paciente, fomentando el respeto, la honestidad, la confianza y la ética con la que me caracterizo.

2.3.- Fundamentación legal.

CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

LEY ORGANICA DE SALUD

TITULO PRELIMINAR

CAPITULO I

Del derecho a la salud y su protección

Art. 1.- La presente Ley tiene como finalidad regular las acciones que permitan efectivizar el derecho universal a la salud consagrado en la Constitución Política de la República y la ley. Se rige por los principios de equidad, integralidad, solidaridad, universalidad, irrenunciabilidad, indivisibilidad, participación, pluralidad, calidad y eficiencia; con enfoque de derechos, intercultural, de género, generacional y bioético.

Art. 3.- La salud es el completo estado de bienestar físico, mental y social y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades. Es un derecho humano inalienable, indivisible, irrenunciable e intransigible, cuya protección y garantía es responsabilidad primordial del Estado y el resultado de un proceso colectivo de interacción donde estado, sociedad, familia e individuos convergen para la construcción de ambientes, entornos y estilos de vida saludables.

LIBRO I

De las acciones de salud

TITULO I

CAPITULO I

Disposiciones comunes

Art. 12.- La comunicación social en salud estará orientada a desarrollar en la población hábitos y estilos de vida saludables, desestimular conductas nocivas, fomentar la igualdad entre los géneros, desarrollar conciencia sobre la importancia del autocuidado y la participación ciudadana en salud.

Capítulo III

AMPARO AL PACIENTE EN SITUACIONES DE EMERGENCIA

Art. 7.- Situación de emergencia.- Es toda contingencia de gravedad que afecte a la salud del ser humano con inminente peligro para la conservación de la vida o de la integridad física de la persona, como consecuencia de circunstancias imprevistas e inevitables, tales como: choque o colisión, volcamiento u otra forma de accidente de tránsito terrestre, aéreo o acuático, accidentes o infortunios en general, como los ocurridos en el medio de trabajo, centros educativos, casa, habitación, escenarios deportivos, o que sean el efecto de delitos contra las personas como los que producen heridas causadas con armas cortopunzantes, de fuego, contundentes, o cualquiera otra forma de agresión material.

Art. 8.- Todo paciente en estado de emergencia debe ser recibido inmediatamente en cualquier servicio de salud, público o privado, sin necesidad de pago previo.

Art. 9.- Se prohíbe a los servicios de salud públicos y privados exigir al paciente en estado de emergencia y a las personas relacionadas con él, que presenten cheques, tarjetas de crédito, pagarés a la orden, letras de cambio u otro tipo de documento de pago, como condición previa a ser recibido, atendido y estabilizado en su salud.

Tan pronto como el paciente haya superado la emergencia y se encuentre estabilizado en sus condiciones físicas, el servicio de salud tendrá derecho para exigir al paciente o a terceras personas relacionadas con él, el pago de los servicios de salud que recibió.

Normas del buen vivir, Sección Segunda: Salud

Art. 358.- El sistema nacional de salud tendrá por finalidad el desarrollo, protección y recuperación de las capacidades y potencialidades para una vida saludable e integral, tanto individual como colectiva, y reconocerá la diversidad social y cultural. El sistema se guiará por los principios generales del sistema nacional de inclusión y equidad social, y por los de bioética, suficiencia e interculturalidad, con enfoque de género y generacional.

Art. 359.- El sistema nacional de salud comprenderá las instituciones, programas, políticas, recursos, acciones y actores en salud, abarcará todas las dimensiones del derecho a la salud, garantizará la promoción, prevención, recuperación y rehabilitación en todos los niveles y propiciará la participación ciudadana y el control social.

Art. 360.- El sistema garantizará, a través de las instituciones que lo conforman, la promoción de la salud, prevención y atención integral, familiar y comunitaria, con base en la atención primaria de salud, articulará los diferentes niveles de atención y promoverá la complementariedad con las medicinas ancestrales y alternativas.

La red pública integral de salud será parte del sistema nacional de salud y estará conformada por el conjunto articulado de establecimientos estatales, de la seguridad social y con otros proveedores que pertenecen al Estado, con vínculos jurídicos, operativos y de complementariedad.

Art. 361 .- El Estado ejercerá la rectoría del sistema a través de la autoridad sanitaria nacional, será responsable de formular la política nacional de salud, y normará, regulará y controlará todas las actividades relacionadas con la salud, así como el funcionamiento de las entidades del sector.

Art. 362.- La atención de salud como servicio público se prestará a través de las entidades estatales, privadas, autónomas, comunitarias y aquellas que ejerzan las medicinas ancestrales alternativas y complementarias. Los servicios de salud serán seguros, de calidad y calidez y garantizarán el consentimiento informado, el acceso a la información y la confidencialidad de la información de los pacientes.

Los servicios públicos estatales de salud serán universales y gratuitos en todos los niveles de atención y comprenderán los procedimientos de diagnóstico, tratamiento, medicamentos y rehabilitación necesarios.

Art. 363.- El Estado será responsable de:

1. Formular políticas públicas que garanticen la promoción, prevención, curación, rehabilitación y atención integral en salud y fomentar prácticas saludables en los ámbitos familiar, laboral y comunitario.

2. Universalizar la atención en salud, mejorar permanentemente la calidad y ampliar la cobertura.

3. Fortalecer los servicios estatales de salud, incorporar el talento humano y proporcionar la infraestructura física y el equipamiento a las instituciones públicas de salud.

4. Garantizar las prácticas de salud ancestral y alternativa mediante el reconocimiento, respeto y promoción del uso de sus conocimientos, medicinas e instrumentos.

5. Brindar cuidado especializado a los grupos de atención prioritaria establecidos en la Constitución.

6. Asegurar acciones y servicios de salud sexual y de salud reproductiva, y garantizar la salud integral y la vida de las mujeres, en especial durante el embarazo, parto y postparto.

7. Garantizar la disponibilidad y acceso a medicamentos de calidad, seguros y eficaces, regular su comercialización y promover la producción nacional y la utilización de medicamentos genéricos que respondan a las necesidades epidemiológicas de la población. En el acceso a medicamentos, los intereses de la salud pública prevalecerán sobre los económicos y comerciales.

Art. 364.- Las adicciones son un problema de salud pública. Al Estado le corresponderá desarrollar programas coordinados de información, prevención y control del consumo de alcohol, tabaco y sustancias estupefacientes y psicotrópicas así como ofrecer tratamiento y rehabilitación a los consumidores ocasionales, habituales y problemáticos. En ningún caso se permitirá su criminalización ni se vulnerarán sus derechos constitucionales.

El Estado controlará y regulará la publicidad de alcohol y tabaco.

Art. 365.- Por ningún motivo los establecimientos públicos o privados ni los profesionales de la salud negarán la atención de emergencia. Dicha negativa se sancionará de acuerdo con la ley.

Art. 366.- El financiamiento público en salud será oportuno, regular y suficiente, y deberá provenir de fuentes permanentes del Presupuesto General del Estado. Los

recursos públicos serán distribuidos con base en criterios de población y en las necesidades de salud.

El Estado financiará a las instituciones estatales de salud y podrá apoyar financieramente a las autónomas y privadas siempre que no tengan fines de lucro, que garanticen gratuidad en las prestaciones, cumplan las políticas públicas y aseguren calidad, seguridad y respeto a los derechos. Estas instituciones estarán sujetas a control y regulación del Estado. (Constitución del Ecuador, 2008)

2.4.- Categorías fundamentales

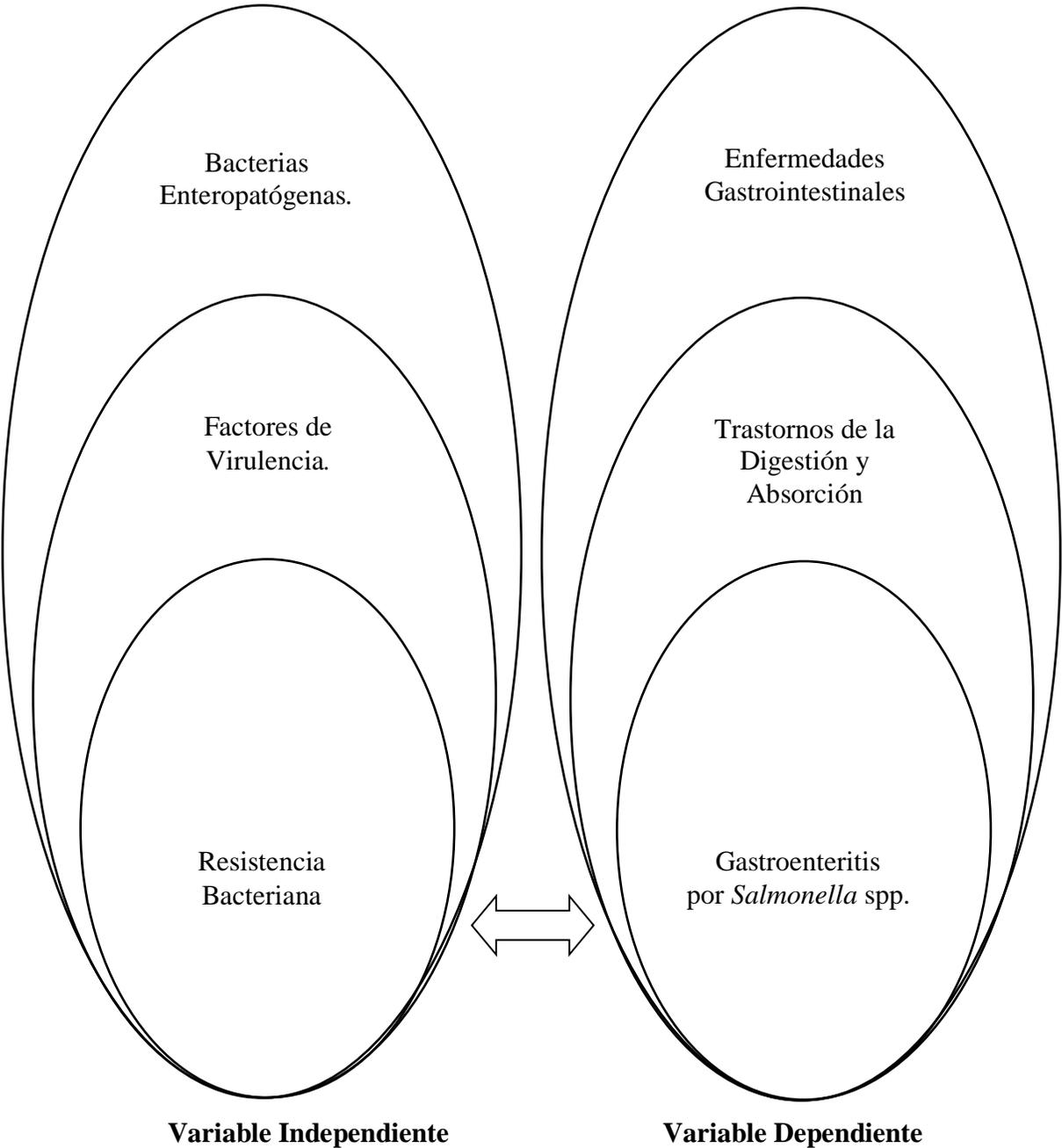


Gráfico 1. Categorías fundamentales.

Fuente: El investigador

2.4.1.- Bacterias Enteropatógenas

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un importante problema de salud a nivel mundial. Estas enfermedades se producen por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos, parásitos o bien las sustancias tóxicas que ellos producen.

2.4.1.1.- Bacterias causantes de Enfermedades Gastrointestinales

2.4.1.1.1.- Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC)

Escherichia coli es el nombre dado a una gran familia de bacterias normalmente halladas en el intestino de los seres humanos y animales. La mayoría de las *E. coli* no producen enfermedad, sin embargo ciertos tipos sí pueden hacerlo. Algunas, agrupadas como *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC), son causales de una diarrea sanguinolenta que, usualmente, se cura sola, pero que en el 10% de los casos puede complicarse y desarrollar insuficiencia renal aguda en niños (Síndrome Urémico Hemolítico SUH) y trastornos de coagulación en adultos (Púrpura Trombocitopénica Trombótica PTT).

La complicación de la enfermedad afecta particularmente a niños, ancianos y aquellos que por padecer otras enfermedades tengan su sistema inmunológico deprimido. La infección por *E. coli* productor de toxina Shiga se encuentra en aumento en el mundo entero desde principios de la década del 80.

Las STEC se encuentran frecuentemente en el intestino de animales bovinos sanos y otros animales de granja, y llegan a la superficie de las carnes por contaminación con materia fecal durante el proceso de faena o su posterior manipulación. Se pueden encontrar también en el agua, la leche y las verduras, que se contaminan por contacto con las heces de estos animales (por ejemplo: las verduras por riego con aguas servidas, la leche durante el ordeño, etc.).

Las personas pueden infectarse con *E. coli* productor de toxina Shiga:

- ✓ comiendo comida contaminada,
- ✓ bebiendo agua contaminada,
- ✓ por contacto directo con animales de granja o con sus heces,
- ✓ por bañarse en lagos, lagunas y/o piletas contaminadas,
- ✓ por contacto con personas infectadas o con sus heces.

Características de la enfermedad

Síntomas: los síntomas que pueden presentarse incluyen diarrea, dolores abdominales, vómitos y otros más severos como diarrea sanguinolenta, deficiencias renales, trastornos de coagulación y muerte.

Período de incubación: es de 3 a 9 días.

Alimentos asociados: Carnes picadas de vaca y aves sin cocción completa (ej.: hamburguesas), salame, arrollados de carne, leche y jugos sin pasteurizar, productos lácteos elaborados a partir de leche sin pasteurizar, aguas contaminadas, lechuga, repollo y otros vegetales que se consumen crudos.

Medidas de control:

- ✓ Cocinar la carne completamente, en especial la carne picada y los productos elaborados con ella (que no queden partes rosadas o rojas en su interior)
- ✓ Lavarse las manos con agua y jabón después de ir al baño, antes de manipular alimentos y después de tocar alimentos crudos.
- ✓ Lavar bien las frutas y verduras.
- ✓ Consumir leche pasteurizada.
- ✓ Consumir agua potable; ante la duda hervirla o agregar dos gotas de lavandina por litro de agua, agitar y dejar reposar 30 minutos.
- ✓ Evitar la contaminación cruzada entre alimentos crudos y cocidos.

2.4.1.1.2.- *Salmonella spp.*

Las Salmonellas son un grupo de bacterias que causan diarreas en humanos. Estas bacterias normalmente se encuentran en el tracto intestinal del hombre y de los animales, son resistentes a la congelación y a la deshidratación, pero no sobreviven a medios ácidos y son poco resistentes al calor. La gastroenteritis causada por *Salmonella* se denomina salmonelosis.

Características de la enfermedad.

Síntomas: cólicos abdominales, vómito, diarrea y fiebre.

Consecuencias crónicas: Síntomas de artritis que pueden aparecer 3 a 4 semanas después de los síntomas agudos.

Período incubación: de 12 a 72 horas.

Alimentos asociados: Carnes crudas, pollo, huevos, leche y derivados lácteos, pescados, salsas y aderezos para ensaladas, mezclas para pasteles, postres a base de crema, gelatina en polvo, cacao y chocolate.

2.4.1.1.3.- *Campylobacter spp.*

El organismo *Campylobacter* es en realidad un grupo de bacterias de configuración espiral que pueden causar enfermedad en los seres humanos y los animales. En la mayoría de los casos la enfermedad en los seres humanos es ocasionada por una especie, llamada *Campylobacter jejuni*. Esta crece bien a temperatura del cuerpo de un ave y parece bien adaptada a las aves que la transportan sin enfermarse. La bacteria es frágil. No puede tolerar la deshidratación y puede destruirse mediante oxígeno. Crece sólo si existe menos oxígeno que la cantidad atmosférica en el entorno.

La campilobacteriasis es el nombre de la enfermedad causada por *C. jejuni*, también conocida como enteriditis o gastroenteritis por *Campylobacter*.

Características de la enfermedad

Síntomas: diarrea, calambres, dolor abdominal y fiebre. La diarrea puede ser sanguinolenta y puede ir acompañada de náuseas y vómitos.

Periodo de incubación: de 1 a 5 días.

Alimentos asociados: Pollo insuficientemente cocido y leche cruda. La bacteria puede llegar a otros alimentos por contaminación cruzada.

2.4.1.1.4.- Clostridium perfringens

Está ampliamente distribuido en la atmósfera y se halla frecuentemente en el intestino humano y de muchos animales domésticos y salvajes. Las esporas de esta bacteria están presentes en el suelo, sedimentos y áreas sujetas a la polución fecal por humanos y animales. La enfermedad transmitida por *Cl. perfringens* se describe como envenenamiento perfringens de alimentos.

Características de la enfermedad

Síntomas: intensos cólicos abdominales y diarrea.

Período de incubación: de 8 a 12 horas después de ingerido el alimento.

Alimentos asociados: Las carnes y derivados y los caldos de carne son los más peligrosos.

La preparación de alimentos para colectividades (como escuelas, cafeterías, hospitales, alojamientos, penitenciarías, etc.) es la causa más común de intoxicación por *Cl. perfringens*, y ocurre cuando una gran cantidad de alimentos se preparan con mucha anticipación.

2.4.1.1.5.- *Staphylococcus aureus*.

Los humanos son el depósito natural de *S. aureus*. Esta bacteria se encuentra en la mucosa nasal y oral, además del pelo, heridas y ampollas. La contaminación de alimentos se da por fallas en la higiene personal y manipulación inadecuada de los alimentos.

La enterotoxina producida por las cepas de *S. aureus* puede causar estafiloenterotoxicosis o estafiloenterotoxemia. Esta toxina es termorresistente.

Características de la enfermedad

Síntomas: náuseas, vómitos, sensación de angustia, cólico abdominal y postración. En casos severos puede ocasionar dolores de cabeza, dolores musculares, alteraciones temporales de la presión sanguínea y arritmia cardíaca.

Alimentos asociados: Carnes y derivados; aves y derivados del huevo; ensaladas con huevos, atún, pollo, papa y pastas; productos de panificación como pasteles rellenos con crema, tortas de crema, además de leche cruda y productos lácteos.

2.4.2.- Factores de Virulencia

Ha pasado más de un siglo desde que *Salmonella typhi* fue aislada y reconocida como el agente causal de la fiebre tifoidea en humanos y, sin embargo, los mecanismos de virulencia de esta bacteria no han sido entendidos del todo aún. Algunas de las manifestaciones son producidas por la liberación de una endotoxina la cual tiene diversos efectos biológicos, incluyendo la inducción de fiebre, hipotensión arterial, cambios en la cuenta leucocitaria y estimulación policlonal de linfocitos B. La alta especificidad de esta bacteria por su hospedero ha provocado la necesidad del estudio de la infección en ratones por *Salmonella typhimurium*.

- Somático O, del lipopolisacárido en la pared celular, termoestable y es la base de la clasificación en subgrupos.

- Flagelar H, de la proteína flagelina, termolábil, es la base de la clasificación de especies.
- Envoltura Vi, termolábil, responsable de la virulencia de varias especies patogénicas.

El antígeno Vi de *Salmonella typhi* ha sido objeto de muchas investigaciones desde los años treinta, época en la que se identificó su importancia en la patogénesis e inmunidad de la enfermedad: invariablemente *S. typhi* aislada de sangre de pacientes con fiebre tifoidea contenía este antígeno.

El antígeno Vi parece no actuar como un prerrequisito de invasión a las células epiteliales, sino más bien como un factor protector de los antígenos O contra la acción de los anticuerpos o el complemento. Los anticuerpos dirigidos contra el antígeno Vi parecen facilitar la fagocitosis, ya que las bacterias con este antígeno capsular son típicamente resistentes a la fagocitosis en la ausencia de anticuerpos específicos.

Por otra parte, se ha demostrado que el antígeno O aumenta la virulencia de la bacteria cuando la infección ocurre por una ruta en la cual éstas son expuestas a macrófagos capaces de matar a la *Salmonella*. Este efecto parece ser mediado por la activación de la vía alterna del complemento.

Los antígenos O que evitan esta activación, por una concentración relativamente baja de los componentes del complemento en los tejidos, escapan de la fagocitosis y muerte.

Hay evidencias de que algunas cepas mutantes, que carecen de antígeno O pero lo sintetizan parcialmente en medio que contiene galactosa, despiertan una respuesta inmune específica y además son virulentas; sin embargo, también se han informado resultados contrarios, que sugieren que el antígeno O no es esencial para la virulencia, y que la respuesta inmune que induce no es protectora a la infección con la bacteria.

En varias especies de *Salmonella* se ha demostrado que existe un plásmido necesario para causar la infección más allá de las placas de Peyer del intestino, en los nódulos linfáticos mesentéricos y en el bazo. Hasta la fecha este tipo de plásmidos no se han estudiado en *S. typhi*.

Jones y colaboradores han propuesto que los plásmidos de virulencia están involucrados en la adherencia e invasión de las células de mamíferos, y que estos plásmidos pueden integrarse en el cromosoma bacteriano, lo que evita la expresión del fenotipo de virulencia. Cuando los plásmidos se escinden del cromosoma, se presenta de nuevo la virulencia bacteriana.

Se han propuesto tres probables mecanismos por los cuales la bacteria evade su destrucción en el interior de los fagocitos:

- a) inhibición de la fusión fagosoma-lisosoma.
- b) interferencia con los metabolitos reactivos del oxígeno o con las enzimas lisosomales.
- c) transición en el interior del citoplasma.

Se han obtenido evidencias que apoyan la hipótesis de que la sobrevivencia de *Salmonella* en macrófagos es un factor primordial en la patogenia del microorganismo. Una de ellas es que los mutantes por inserción de transposón (elemento genético transponible es una secuencia de ADN que puede moverse de manera autosuficiente a diferentes partes del genoma de una célula, un fenómeno conocido como transposición. En este proceso, se pueden causar mutaciones y cambio en la cantidad de ADN del genoma) en *S. typhimurium*, que no sobrevivieron intercelularmente en macrófagos cultivados, tienen reducida virulencia en ratones.

Al respecto, en estudios simultáneos, los grupos de Mekalanos y Heffron, demostraron que las *S. typhimurium* con mutaciones en el locus regulador *phoP* (responsable de la síntesis de una fosfatasa ácida periplásmica), a virulentas cuando

se inyectan en ratones BALB/c, son incapaces de sobrevivir en macrófagos y son extremadamente sensibles a péptidos con actividad antimicrobiana, tales como las defeminas.

El locus *phoP* está compuesto de dos genes presentes en un operón: *phoP* y *phoQ*, y las secuencias de aminoácidos de los productos génicos tienen alta homología con otros miembros de reguladores transcripcionales bacterianos de dos componentes que responden a estímulos ambientales, tales como *PhoB* y *OmpR*. Se ha propuesto entonces, que el sistema *phoP/phoQ* regula la expresión de genes involucrados en la virulencia de *Salmonella*.

Recientemente se identificó un grupo de proteínas de membrana externa (PME), las porinas (denominadas así por constituir poros de difusión), involucradas en la patogénesis de ciertas bacterias. Las porinas de *S. typhimurium* inducen la activación del complemento por la vía clásica y por la vía alterna; son capaces de unirse a leucocitos polimorfonucleares de humanos, afectando la integridad de su membranas y su actividad funcional; parecen tener relación con la adherencia e invasión de las bacterias a células epiteliales, y son capaces de inducir la proliferación de linfocitos T. La participación de estas proteínas en la patogenicidad apoya su empleo como inmunógenos protectores. (García, Paniagua, Pelayo, & Isibasi, 1992)

2.4.3.- Resistencia Bacteriana.

La resistencia antibiótica es la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico. La resistencia se produce naturalmente por selección natural a través de mutaciones producidas por azar, pero también puede inducirse artificialmente mediante la aplicación de una presión selectiva a una población. Una vez que se genera la información genética, las bacterias pueden transmitirse los nuevos genes a través de transferencia horizontal (entre individuos) por intercambio de plásmidos; o igualmente producto de una conversión lisogénica. (Gervas, 2000)

2.4.3.1.- Tipos de Resistencia.

Natural o intrínseca.- Es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos, de una edad estimada de 2000 años encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá. Además, los microorganismos que producen antibióticos son por definición resistentes.

En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico (Andreu, 2005).

Adquirida.- Constituye un problema en la clínica, se detectan pruebas de sensibilidad y se pone de manifiesto en los fracasos terapéuticos en un paciente infectado con cepas de un microorganismo en otros tiempos sensibles.

La aparición de la resistencia en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se trasmite de forma vertical de generación en generación. (Lara Tellez, Flores Covarrubias, Avila Soto, & Gutierrez Ahuactzin, 1999).

2.4.3.2.- Mecanismos de resistencia

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico.

- Inactivación del antibiótico.
- Alteración del sitio blanco del antibiótico.
- Barreras de permeabilidad.

2.4.3.2.1.- Destrucción e inactivación del antibiótico

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, B-lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloramfenicol, lincosamidas y Estreptograminas. Sabemos que los antibióticos, B-lactámicos como penicilina, oxacilina, cefalosporinas, actúan inhibiendo la enzima D-alanil D-alanincaboxipeptidasa (PBPS) encargada de la síntesis de la pared. La B-lactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo. Se trata de un sistema enzimático amplio, común y eficiente de resistencia frecuentemente producida por bacterias Gram negativas.

Pueden clasificarse de acuerdo con su forma de producción en cuatro grupos:

- Por localización genética (cromosomas o plásmidos).
- Por exposición genética (constitutiva o inducida).
- Por producción primaria (dependiente de microorganismo).
- Por sustrato mayor (depende de la clase de antibiótico).

Igualmente por su amplia difusión se deben reconocer algunas codificadas por plásmidos:

- Enzimas de amplio espectro que hidrolizan las bencilpeni-cilinas y cefaloridina.
- Oxacilinasas que degradan oxacilinas y similares (OXA-1, OXA-2) la tipo A producida por *Staphylococcus aureus*, *enterobacterias* (TEM-1, SMV-1) éstas últimas (*E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente) de alta importancia pues codifican la B-lactamasa de amplio espectro capaz de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos.
- Carbecilinasas que hidrolizan penicilina.

- Betalactamasas de espectro extendido.
- Oximino B-lactamasa diferentes a las Betalactamasas de espectro extendido.
- Enzimas que hidrolizan cefamicinas y oximinobetalactámicos y son resistentes a la inhibición del clavulanato.
- Carbapenemasas.

Otra vía para inactivación del antibiótico es la “modificación enzimática” del mismo. Este es el caso de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos codificadas en plásmidos. Entre las principales enzimas responsables de catalizar la modificación, están la acetil transferasa (AAC), fosfatidiltransferasa (APH) y adeniltransferasa (ANT o AAD). Cuando un aminoglucósido es inactivado ya no puede unirse a la subunidad 30S ribosomal y por lo tanto no pueden interferir en la síntesis de proteínas. El mecanismo de resistencia a eritromicina es común a lincosamidas y estreptograminas. (Spicer, 2009).

El Ciprofloxacino tiene una buena actividad clínica contra *Salmonella enterica*. Sin embargo, en los últimos años, se ha empezado a comunicar la existencia de aislados de *Salmonella enterica* que, aunque caen dentro de la categoría de susceptibles a ciprofloxacino según los criterios del National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) presentan una disminución de la sensibilidad a dicho antibiótico. Estos aislamientos parecen presentar ciertas mutaciones en la región gyr A de la ADN girasa bacteriana 4 que pueden llevar a presentar una respuesta retardada a la antibioterapia o al desarrollo de resistencia durante el tratamiento, debido a los niveles subóptimos del antibiótico. Al ser ciprofloxacino un fármaco de primera línea en el tratamiento de las infecciones por *Salmonella enterica* es importante estudiar no sólo los aislados resistentes a dicho antibiótico según las recomendaciones actuales del NCCLS, sino también aquellos aislados con sensibilidad reducida a ciprofloxacino. (Lepe Jiménez, 2006)

2.4.3.2.2.- *Barreras de permeabilidad.*

Incluye tres componentes básicos:

- La estructura de la membrana externa de la bacteria.
- Las porinas. Canales inespecíficos que excluyen el antibiótico por tamaño molecular.
- Características fisicoquímicas del antimicrobiano. En el caso de los medicamentos hidrofílicos (imipenem) requieren presencia de porinas para su transporte al interior de la célula.

Existen fundamentalmente dos mecanismos de resistencia:

a).- Entrada disminuida:

- ***Permeabilidad de la membrana externa:*** claramente definida en los microorganismos Gramnegativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico.
- ***Permeabilidad de la membrana interna:*** consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos.
- ***Porinas:*** son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo empleado por *Salmonella typhimurium* (OmpC) contra cefalosporinas de primera generación, *Serratia marcescens*, *E. coli* y *Pseudomona aeruginosa* contra aminoglucósidos y carbapenem.

b).- Flujo activo: es debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y

se promueve la extracción activa del mismo. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloramfenicol y B-lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario (Spicer, 2009).

2.4.3.2.3.- Alteración del sitio blanco

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular como pared celular, subunidad 50S, 30S ribosomales, etc. De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, conferirán resistencia a los betalactámicos dado que es esta enzima su sitio de acción.

Respecto a las demás estructuras ribosomales encontramos modificaciones a nivel de múltiples subunidades como 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas. Por ejemplo, la metilación ARN ribosomal de la subunidad 50S es el mecanismo de resistencia de *S. aureus*, *Bacteroides fragilis* y *Clostridium perfringens* a tetraciclinas, cloramfenicol y macrólidos. El mecanismo de resistencia (ribosomal) a gentamicina, tobramicina y amikacina es poco frecuente y consiste en la mutación del péptido S12 de la subunidad 30S. Cabe destacar en este punto los mecanismos de meticilino resistencia por producción de una proteína ligadora de penicilina (PBP), la resistencia a penicilina por *S. pneumoniae*, la resistencia a glicopéptidos por *S. aureus* (Queipo Zaragoza, Budia, Mascaros García, Gomez Ferrer Lozano, Gobernado Serrano, & Jimenez Cruz, 2009).

2.4.4.- Enfermedades Gastrointestinales

Las Enfermedades Gastrointestinales (GI) a menudo se presentan con uno o más de cuatro clases comunes de síntomas y signos:

1).- Dolor abdominal o torácico.

2).- Ingestión alterada de medicamento, ejemplo: debido a náuseas, vómito, disfagia (dificultad para deglutir), odinofagia (deglución dolorosa) o anorexia (falta de apetito).

3).- Movimientos intestinales alterados (diarrea, estreñimiento).

4).- Sangrado gastrointestinal que ocurre sin aviso o precedido por uno o más de lo anterior. Sin embargo, no todos los casos de una enfermedad gastrointestinal particular se presentan del mismo modo. Por ejemplo la enfermedad por úlcera péptica, aunque se acompaña en forma típica de dolor abdominal, puede ser indolora.

La enfermedad gastrointestinal puede estar limitada al tracto GI (ej: reflujo, esofagitis, úlcera péptica, enfermedad diverticular) de la manifestación de un trastorno sistémico (ej: enfermedad intestinal inflamatoria) o presentarse como enfermedad sistémica debido a un proceso patológico GI primario (deficiencias de vitamina ocasionadas por malabsorción). Debido a que las diferentes partes del tracto GI se especializan en ciertas funciones, las causas más prominentes, consecuencias y manifestaciones de la enfermedad difieren de un sitio anatómico a otro.

En su forma aguda, la enfermedad Gastrointestinal se puede complicar por deshidratación, sepsis o sangrado, o por sus consecuencias como un choque. La deshidratación puede ocurrir aun como consecuencia de alteraciones sutiles en el consumo o salida de líquidos, porque el volumen de líquidos que atraviesa diariamente el tracto GI es enorme. La sepsis puede originarse de la interrupción de la función de la barrera contra los patógenos en el entorno, incluyendo bacteria residentes en el colon.

La tendencia al sangrado es un reflejo de la tremenda vascularidad del tracto GI y la dificultad para aplicar presión en el sitio del sangrado. De manera crónica, la enfermedad gastrointestinal se puede complicar por la desnutrición y estados de deficiencia. Esto ocurre porque muchas enfermedades GI primarias causan

malabsorción (insuficiencia para absorber uno o más de los nutrientes necesarios en el alimento ingerido).

La enfermedad del tracto Gastrointestinal se puede presentar como obstrucción parcial o completa (bloqueo del movimiento de contenidos hacia abajo del tracto GI) causada por adhesiones y estenosis que se deben a la proliferación del tejido conjuntivo en respuesta a la inflamación.

Los síntomas y signos de la obstrucción pueden estar en un rango desde náuseas leves, dolor abdominal y anorexia hasta vómito en proyectil, dolor de rebote a la palpación con evolución hacia perforación, infarto y sangrado, hipotensión choque, sepsis y muerte.

La gravedad de los síntomas depende de la extensión de la obstrucción, del grado hasta el que afecta el flujo sanguíneo hacia la región afectada y la etapa en la historia natural del proceso en el que el paciente se presenta para atención médica.(McPhee & Ganong, 2007)

La enfermedad diarreica es un síndrome de etiología multicausal en la que el evento primario suele ser la interacción del organismo con agentes infecciosos virales, bacterianos y parasitarios; los eventos secundarios corresponden a las consecuencias del daño producido por estos agentes al organismo, particularmente al epitelio digestivo, en forma de pérdidas anormales de agua y sales, en la alteración en la digestión y absorción de nutrimentos (como la intolerancia a la lactosa) y, secundariamente, en la afectación del estado nutricional y el desarrollo de alergia alimentaria.

Los mecanismos de acción de los agentes infecciosos asociados con la enfermedad diarreica son muy diversos, ya que mientras los virus no suelen inducir respuesta inflamatoria, en las infecciones por bacterias enteroinvasoras pueden presentarse evacuaciones con moco y sangre, además de leucocitos en las heces (Larrosa Haro, 2006)

2.4.4.1.- Diarrea Infecciosa.

Las Infecciones Gastrointestinales pueden presentarse principalmente con síntomas del tubo digestivo superior (náuseas, vómito, dolor abdominal tipo cólico), síntomas producidos en el intestino delgado (diarrea acuosa profusa) o en colon (tenesmo, urgencia fecal, diarrea menos profusa). Las fuentes de infección incluyen una transmisión persona a persona (diseminación fecal-oral de *Shigella*), a través del agua (*Criptosporidium*), a través de los alimentos (intoxicación alimentaria por *S. aureus* o *Salmonella*) y proliferación después de la administración de antibióticos (*Clostridium difficile*).

Las infecciones gastrointestinales pueden afectar el estómago causando náuseas y vómito, o afectar el intestino delgado y colon con diarrea como síntoma predominante. El término “gastroenteritis” denota en forma clásica la infección del estómago y de la porción proximal del intestino delgado.

La diarrea infecciosa se clasifica clínicamente en secretora, inflamatoria y hemorrágica con diferentes mecanismos fisiopatológicos que participan para estas presentaciones.

2.4.4.1.1.- La diarrea secretora

Es causada por diversas bacterias, virus y protozoarios. Estos microorganismos se unen a la superficie de los enterocitos en la luz del intestino delgado. El examen de heces es notable por la ausencia de leucocitos fecales, aunque en casos raros hay sangre oculta en heces. Los microorganismos asociados con esta diarrea son el *V. cholerae*, *ECET*, *rotavirus*, *Giardia lamblia*, *Criptosporidium*.

2.4.4.1.2.- La diarrea inflamatoria

Es ocasionada por invasión bacteriana de la luz de la mucosa, con la destrucción y muerte celular resultantes. Los pacientes con este síndrome por lo general tienen

fiebre y refieren dolor abdominal tipo cólico bajo y diarrea, que pueden tener moco visible.

El término disentería se utiliza cuando hay cantidades significativas de leucocitos fecales y sangre macroscópica. Los patógenos asociados con diarrea inflamatoria incluyen ECEI, *Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Entamoeba histolytica*.

2.4.4.1.3.- La diarrea hemorrágica

Una variante de diarrea inflamatoria es causada principalmente por ECEH. Esta ocasiona un amplio espectro de enfermedades clínicas, cuyas manifestaciones incluyen: infección asintomática, diarrea acuosa no sanguinolenta, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (se caracteriza por anemia e insuficiencia renal).(McPhee & Ganong, 2007)

2.4.5.- Trastornos de la Digestión y Absorción.

En ocasiones hay digestión y absorción importantes en el aspecto fisiológico de principio a fin del tubo digestivo; de hecho, la eficacia de la terapia con nitroglicerina por vía sublingual para pacientes con angina es un testimonio de la eficacia de la absorción sublingual.

Comoquiera que sea, los trastornos de la digestión y absorción prominentes en clínica se enfocan en el intestino delgado y el colon, y en los órganos accesorios (páncreas e hígado) cuyas secreciones (enzimas digestivas, bicarbonato y bilis) se necesitan para la digestión y la absorción en el intestino delgado. (McPHEE & HAMMER, 2011)

Entre los principales causantes de los trastornos de la digestión está presente una patología como es la Gastroenteritis.

2.4.5.1.- Gastroenteritis.

Es una condición médica caracterizada por la inflamación "itis" del tracto gastrointestinal que está compuesto por el estómago "gastro" y el intestino delgado "entero". Los síntomas principales son diarrea, vómito, dolor abdominal y calambres.

A nivel mundial, la mayoría de los casos en niños se debe al rotavirus. En los adultos, las causas más comunes son el norovirus y la *Campylobacter*. Hay causas menos comunes, como otros tipos de bacterias (o sus toxinas) y parásitos. Su transmisión puede ocurrir mediante el consumo de alimentos preparados inadecuadamente o de agua contaminada o a través del contacto físico con personas infectadas.

Se calcula que en el mundo se producen entre tres y cinco mil millones de casos de gastroenteritis al año, que afectan principalmente a niños y aquellos en países en vías de desarrollo. Lo que resultó en aproximadamente 1,3 millones de muertes en niños menores de cinco años en el 2008, de éstas la mayoría se produjeron en los países más pobres del mundo. Más de del 450.000 de estas muertes se deben al rotavirus en niños menores de 5 años.

El cólera causa entre tres y cinco millones casos y mata a unas 100 000 personas al año. En países en vías de desarrollo, los niños menores de dos años padecen con frecuencia seis o más infecciones al año lo que resulta en gastroenteritis clínicamente significativas. Es menos común en adultos, en parte por el desarrollo de una inmunidad adquirida. (Mandell, 2010)

2.4.5.1.1.- Etiología.

Viral.- Los virus (particularmente el rotavirus) y las bacterias de las especies *Escherichia coli* y *Campylobacter* son las causas principales de la gastroenteritis. Sin embargo, hay muchos otros agentes infecciosos que pueden causar este síndrome. Ocasionalmente se han visto causas no infecciosas, pero son menos probables que la etiología viral o bacteriana. El riesgo de infección es más alto en los niños debido a su falta de inmunidad y su relativa poca higiene.

Entre los virus conocidos como causantes de la gastroenteritis se incluyen el *rotavirus*, el *norovirus*, el *adenovirus* y el *astrovirus*. El rotavirus es el causante más común de gastroenteritis en los niños, y produce niveles de incidencia similares tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. Los virus causan alrededor del 70 % de los casos de diarrea infecciosa en el grupo de edad pediátrica. El rotavirus es una causa menos común en los adultos debido a la inmunidad adquirida.

El norovirus es la causa principal de la gastroenteritis entre los adultos en América ya que provoca más del 90 % de los brotes. Estas epidemias localizadas normalmente ocurren cuando grupos de personas pasan tiempo en proximidad física unos de otros, como ocurre en los cruceros, hospitales o restaurantes. Las personas pueden seguir siendo contagiosas aún después de que se haya terminado su episodio de diarrea. El *norovirus* es la causa de aproximadamente el 10 % de los casos en niños (Mandell, 2010).

Los Coronavirus, Picobirnavirus y Picotrnavirus, pestivirus y Torovirus, asociados con enfermedad diarreica en animales, son virus emergentes en la etiología de la gastroenteritis para los que se necesitan más estudios que determinen su verdadera incidencia y significado clínico. Otros virus como los Adenovirus “no-grupo F” y varios enterovirus (Coxsackie A y B) se encuentran en las heces de individuos sanos y enfermos en una proporción similar, por lo que no ha podido establecerse por ahora su significado clínico. El estudio de Rotavirus, Astrovirus y Adenovirus entéricos se ha facilitado mucho gracias al cultivo celular que ha permitido además la producción de reactivos para el diagnóstico, así como una mejor comprensión de la inmunidad y del ciclo vital de estos virus. Entre los virus con papel causal definitivamente demostrado, los únicos que no se ha logrado cultivar son los Calicivirus humanos. (Isabel, 2006)

Bacteriana.- *Salmonella entérica*, tal como se ve al microscopio con un aumento de mil veces su tamaño y después de una tinción de Gram.

En el mundo desarrollado, la bacteria *Campylobacter jejuni* es la causa principal de la gastroenteritis bacteriana. La mitad de dichos casos se relaciona con la exposición a la carne de aves. En los niños, las bacterias son la causa de alrededor del 15 % de los casos. Las especies más comunes son *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, y *Campylobacter*. Si los alimentos se contaminan con bacterias y se mantienen a temperatura ambiente durante varias horas, las bacterias se multiplican y aumenta el riesgo de infección en las personas que consuman dichos alimentos. Entre los alimentos comúnmente asociados con estas enfermedades se incluyen: carne cruda o poco cocida, pollo, marisco y huevos, brotes crudos, leche sin pasteurizar, quesos frescos, y jugos de frutas y verduras.

En los países en vías de desarrollo, especialmente en África y Asia, el cólera es una causa común de gastroenteritis. Esta infección usualmente se transmite por medio del agua o alimentos contaminados.

La especie toxigénica *Clostridium difficile* es una causa importante de diarrea que ocurre más a menudo en las personas mayores. Los niños pueden ser portadores de estas bacterias sin desarrollar los síntomas. Es una causa común de diarrea en las personas hospitalizadas y frecuentemente se asocia con el uso de antibióticos.

La diarrea infecciosa causada por estafilococo dorado también puede presentarse en quienes han utilizado antibióticos. La "diarrea del viajero" es usualmente un tipo de gastroenteritis bacteriana. Los medicamentos supresores de ácidos parecen aumentar el riesgo de desarrollar una infección significativa después de exponerse a cierta cantidad de organismos, incluidas las especies *Clostridium difficile*, *Salmonella*, y *Campylobacter*.

Parasitarias.- Cierta cantidad de protozoarios puede causar gastroenteritis, sobre todo los del tipo *Giardia lamblia*, aunque las especies *Entamoeba histolytica* y *Cryptosporidium* también han estado involucradas. Como grupo, estos agentes conforman alrededor del 10% de los casos en niños. La especie *Giardia* se presenta más comúnmente en los países en vías de desarrollo, pero este agente etiológico,

hasta cierto punto, causa este tipo de enfermedad en cualquier parte. Ocurre más comúnmente en personas que han viajado a regiones con alta prevalencia, niños que asisten a guarderías, hombres que tienen relaciones sexuales con hombres y entre la población en general después de un desastre.

No infecciosas.- Existe un número de causas no infecciosas para la inflamación del tracto gastrointestinal. Algunas de las más comunes incluyen los medicamentos (como los AINE), ciertos alimentos como la lactosa (en aquellos que tienen intolerancia) y el gluten (en aquellos que padecen celiaquía). La Enfermedad de Crohn también es una fuente no infecciosa de gastroenteritis (con frecuencia aguda). También puede ocurrir una enfermedad secundaria debido a toxinas. Entre las intoxicaciones alimentarias asociadas con náuseas, vómitos y diarrea se encuentran: la intoxicación por ciguatera debido al consumo de pescados predadores contaminados, la escombroidosis asociada con el consumo de ciertos tipos de pescado en mal estado, el envenenamiento por tetradotoxina por el consumo del pez globo entre otros, y el botulismo debido a la conservación incorrecta de los alimentos. (Mandell, 2010)

2.4.5.1.2.- Fisiopatología.

La gastroenteritis se define como vómitos o diarrea causados por una infección en el intestino delgado o en el intestino grueso. Por lo general, los cambios en el intestino delgado no son inflamatorios, pero los cambios en el intestino grueso sí lo son. El número de patógenos que se necesita para causar una infección varía de entre unos pocos a uno (para el *Cryptosporidium*) hasta tantos como 10⁸ (para la *Vibrio cholerae*).

2.4.5.1.3.- Transmisión.

La transmisión puede ocurrir a través del consumo de agua y alimentos contaminados o cuando la gente comparte objetos personales. En las zonas en las que hay estaciones lluviosas y secas, la calidad del agua empeora generalmente durante la estación

lluviosa, y esto tiene correlación con el momento de los brotes. En zonas del mundo con estaciones, las infecciones son más comunes durante el invierno. La alimentación a bebés por medio de biberones no desinfectados correctamente es una causa significativa a escala mundial. Las tasas de transmisión también están relacionadas a una higiene deficiente, en especial entre los niños, en hogares abarrotados, y en aquellos con condiciones nutricionales deficientes preexistentes. Después de desarrollar tolerancia, los adultos pueden portar ciertos organismos sin presentar señales o síntomas, y actuar así como reservorios naturales de contagio. Si bien algunos agentes (como la *Shigella*) sólo se presentan en primates, otros pueden presentarse en una amplia variedad de animales (como la *Giardia*).

2.4.5.1.4.- Cuadro clínico.

La gastroenteritis normalmente ocasiona diarrea y vómito, aunque de forma menos común, presenta solo uno de los dos. El paciente también puede tener calambres abdominales. Los síntomas suelen empezar a manifestarse de 12 a 72 horas después de contraer el agente infeccioso. Cuando se debe a un agente viral, esta enfermedad normalmente desaparece en el transcurso de una semana. Algunas causas virales también pueden estar relacionadas con fiebre, fatiga, dolor de cabeza y dolor muscular. Si hay presencia de sangre en la deposición, es menos probable que la causa sea viral y más probable que sea bacteriana. Algunas infecciones bacterianas pueden estar asociadas a un dolor abdominal agudo y pueden persistir durante varias semanas.

Los niños infectados con rotavirus usualmente se recuperan por completo en un período de tres a ocho días. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo, el tratamiento para infecciones agudas a menudo está fuera del alcance de la población y la diarrea crónica es común. La deshidratación es una complicación común de la diarrea, y un niño con un nivel significativo de deshidratación puede tener un llenado capilar prolongado, una turgencia cutánea pobre y una respiración anormal. La presencia repetitiva de estas infecciones es común en áreas con saneamiento

deficiente y desnutrición, lo que puede provocar retraso del crecimiento y déficit cognitivo a largo plazo. (Mandell, 2010)

2.4.5.1.5.- Diagnóstico.

Por lo general, la gastroenteritis se diagnostica clínicamente en base a las señales y síntomas de la persona. No siempre es necesario determinar la causa exacta ya que eso no cambia el manejo de la enfermedad. Sin embargo, se debería realizar un cultivo de materia fecal en aquellos que presentan sangre en las heces, aquellos que han estado expuestos a una intoxicación alimentaria y aquellos que viajaron recientemente a un país en vías de desarrollo. También se pueden realizar exámenes de diagnóstico por control. Ya que el 10 % de los bebés alimentados con leche materna y niños pequeños desarrollan hipoglucemia, se recomienda medir la glucosa sérica en esta población. Además se debería comprobar el nivel de electrolitos y función renal cuando existe la preocupación de una deshidratación aguda. (Mandell, 2010)

2.4.5.1.6.- Deshidratación.

Una parte importante de la evaluación es determinar si la persona sufre o no de deshidratación. Por lo general, la deshidratación se divide en leve (3–5 %), moderada (6–9 %), y aguda (≥ 10 %).¹ En los niños, las señales más precisas de deshidratación moderada o aguda son un llenado capilar prolongado, una turgencia cutánea deficiente y una respiración anormal. Otros hallazgos útiles (cuando se utilizan en combinación) incluyen: ojos hundidos, disminución de la actividad, falta de lágrimas y boca seca. La producción normal de orina y la ingestión oral de líquidos son síntomas tranquilizadores. Los exámenes de laboratorio tienen poco beneficio clínico a la hora de determinar el grado de deshidratación. (Mandell, 2010)

2.4.6.- Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

Algunas especies de *Salmonella*, aparte de la *Salmonella typhi*, son causa común de “envenenamiento con alimentos” bacteriano en todo el mundo. La infección se

produce cuando se contaminan alimentos, agua y productos lácteos con heces humanas o animales infectados. La pasteurización de la leche ha disminuido la incidencia de esta enfermedad.

La infección causa inflamación aguda del intestino delgado, con hiperemia difusa de la mucosa, hinchazón, ulceración superficial focal e infiltración con neutrófilos.

La salmonelosis es un conjunto de enfermedades producidas por el género microbiano *Salmonella*. No todas las especies, cepas o serotipos reconocidos tienen igual potencial patogénico. Los principales agentes etiológicos corresponden a *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella enteritidis*.

El paciente se presenta con fiebre de iniciación aguda, dolor abdominal y diarrea, de 1 a 3 días después de la infección la enfermedad suele ser leve. Con poca frecuencia, puede producirse una enfermedad más intensa con bacteremia. (Chandrasoma & Taylor)

2.4.6.1.- *Salmonella spp.*

Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos de la familia Enterobacteriaceae. Se encuentran fundamentalmente asociados a la flora intestinal y, por ello, a aguas y alimentos que hayan contactado con material fecal. Producen grandes cantidades de gas durante la fermentación de azúcares, y llevan a cabo una fermentación ácido mixta, produciendo gran cantidad de productos ácidos y gases.

El principal reservorio de la *Salmonella* es el tracto intestinal de aves domésticas y silvestres. Destacan especialmente gaviotas, palomas, pavos, patos, loros y aves.

Bacterias móviles por flagelos periticos y la mayoría no fermentan la lactosa (99%), dos especies *Salmonella entérica* (seis subespecies: *entérica* o I, *salamae* o II, *arizonae* o IIIa, *diarizonae* o IIIb, *boutenae* o IV, *índica* o VI) y *Salmonella bongori* (designada anteriormente como subespecie V). las cepas de la subespecie I (entérica)

se aíslan usualmente de seres humanos y de animales de sangre caliente. Las subespecies II, IIIa, IIIb, IV y VI y *S. bongori* usualmente se aíslan de animales de sangre fría y del ambiente (rara vez de seres humanos). Actualmente existen más de 2.400 serotipos de *Salmonella*.

La *Salmonella* es una bacteria ubicua que causa enfermedades tanto en los países económicamente deprimidos como en los más desarrollados. Es un modelo biológico de interacción huésped/parásito, al ser una bacteria que infecta a una gran variedad de animales, causa infecciones localizadas y sistémicas, y puede vivir intracelularmente resistiendo la acción de las células fagocitarias.

La bacteria penetra en el huésped por vía digestiva, generalmente a través de los alimentos contaminados. Se adhiere atravesando la mucosa. Una vez en a las células epiteliales del intestino delgado, multiplicándose en ganglios linfáticos, bazo e hígado, es capaz de y causando diseminarse sistémicamente, cuadro febril conocido como un fiebre tifoidea, a diferencia de la mayoría del serotipos causantes de gastroenteritis pueden principalmente niños y ancianos, y en enfermos mortales (Rodríguez Peña, 2006)

Los síntomas incluyen fiebre, diarrea, cólicos abdominales y dolor de cabeza. Los síntomas suelen durar entre 4 y 7 días. La mayoría de las personas mejora sin tratamiento. Puede ser más grave entre los ancianos, niños pequeños y personas con enfermedades crónicas. Si la *salmonella* penetra en el torrente sanguíneo, puede desarrollarse un cuadro serio y hasta riesgoso para la vida. El tratamiento habitual es a base de antibióticos

2.4.6.1.1.-Transmisión.

La *Salmonella* es ubicua en los animales y la enfermedad humana usualmente está ligada a los alimentos de origen natural. La Salmonelosis también se transmite directamente por contacto con los animales, agua y, ocasionalmente, con seres humanos. La *salmonella* casi siempre ingresa por la vía oral, principalmente por

alimentos o bebidas contaminadas. La dosis infectiva promedio está entre 100.000 y 100.000.000 microorganismos.

2.4.6.1.2.- Patogenicidad.

Se conoce cuatro factores de patogenicidad:

- antígenos de superficie
- capacidad invasiva
- endotoxina de la pared
- producción de enterotoxinas.

Los antígenos de superficie incluyen el Vi, que es un factor antifagocitario el cual se ha asociado con cepas de mayor virulencia. Los antígenos somáticos se consideran adhesinas que contribuyen a la adherencia de la bacteria a los tejidos, al igual que las fimbrias de las cepas que las poseen.

La capacidad invasiva de algunas cepas les permite penetrar con mayor facilidad en las células para atravesar los epitelios y ubicarse en la submucosa y los ganglios linfáticos. Las Salmonelas invaden las células epiteliales por un proceso denominado endocitosis mediada por bacterias.

La endotoxina es la pared, que es compartida con la mayoría de las enterobacterias, produce necrosis focal en el sitio en el que se encuentra colonizando la bacteria.

La producción de enterotoxinas por algunas cepas se manifiesta por cuadros diarreicos.

2.4.6.1.3.- Enriquecimiento para el desarrollo en Medios de Cultivo.

El máximo aislamiento de *Salmonella* de muestras fecales se obtiene utilizando caldo de enriquecimiento, aunque es posible aislarlas de personas agudamente enfermas por cultivo directo. Por lo general los caldos de enriquecimiento son altamente selectivos e inhiben el crecimiento de ciertos serotipos especialmente *Typhi*.

Los caldos más utilizados son: tetratonato con verde brillante y selenito. Se puede utilizar el caldo selenito cuando se sospecha el serotipo *Typhi*.(Finlay, y otros)

2.4.6.1.4.- Coprocultivo.

En infecciones infantiles por *E. Coli Enteropatógeno*, *Shigella*, *Salmonella*, gérmenes de intoxicación alimenticia como algunas cepas de *Staphylococcus*, *Clostridium botulino* y en general en sintomatología digestiva susceptible a ser microbiana, el coprocultivo presta una gran ayuda siempre que se verifique con muestra no influenciada por antibiótico terapia. (Ángel & Ángel, 2006)

2.4.6.1.5.- Procedimiento técnico a realizarse para el coprocultivo.

- 1.- Recepción de la muestra diarreica de paciente con Gastroenteritis.
- 2.- Realizar un tamizaje por medio del examen coprológico y coproparasitario con el fin de descartar microorganismos patógenos de enfermedades gastrointestinales como las levaduras (hongos), parásitos, bacterias.
- 3.- Inocular la muestra en medio de enriquecimiento como es el Caldo Selenito de 4 a 6 horas, lo cual contiene nutrientes que permitirán la multiplicación de bacterias.
- 4.- Se procede a sembrar la muestra en un medio específico como es el Agar S.S. (*Salmonella-Shigella*).
- 5.- Posteriormente se realiza el antibiograma en el Agar Mueller Hinton, con los discos de antibióticos como son: Ampicilina/sulbactam, Gentamicina, Cotrimoxazol, Ceftriaxona, Ciprofloxacino y Cloranfenicol.
- 6.- Finalmente se observa el halo de inhibición y se registra en el libro. (Mims, Playfair, Roitt, Wakelin, & Williams, 1999)

2.5.- Hipótesis

La resistencia bacteriana es elevada en los pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María.

2.6.- Señalamiento de variables de la hipótesis

2.7.1.- Variable independiente.

Resistencia bacteriana.

2.7.2.- Variable dependiente.

Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1.- Enfoque de la investigación.

Esta investigación tiene un enfoque tanto cualitativo como cuantitativo. Cuantitativo debido a que se tabularon los resultados obtenidos y se manejó datos estadísticos para la asociación de variables y cualitativo porque se describió la sintomatología que produce la *Salmonella spp.* en pacientes atendidos en el Hospital Corazón Inmaculada de María del Cantón el Chaco, también se comprobará la hipótesis propuesta.

3.2.- Modalidad básica de la investigación.

3.2.1.- De Campo.- En esta investigación se empleó la modalidad de campo porque estuvimos en contacto con los pacientes, tanto en la recolección de las muestras como en el análisis y demás procedimientos hasta obtener los resultados esperados. Palpando de esta manera las necesidades que tienen los pacientes en estudio.

3.2.2.- Bibliográfica - documental.- porque se acudió a revisar trabajos anteriores en las diferentes partes del mundo, revisar nuevas técnicas y métodos de laboratorio para realizar los coprocultivos y antibiogramas; también se recurrió al internet para realizar investigaciones sobre la resistencia bacteriana de *Salmonella spp.* a nivel mundial.

3.3.- Nivel de la investigación.

En la presente investigación se utilizó los siguientes niveles de investigación:

3.3.1.- Nivel exploratorio.- Fue una investigación exploratoria porque se logró encontrar los factores que predisponen a la comunidad a la resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp.* y por ende la repercusión de enfermedades gastrointestinales.

3.3.2.- Nivel descriptivo.- Debido a que el investigador expresa la problemática que afecta a la población del cantón, y sus alrededores, además de los posibles factores de riesgo.

3.3.3.- Asociación de variables.- Se asoció las variables dependiente e independiente, en esta investigación la variable dependiente es la Gastroenteritis por *Salmonella spp.* mientras que la variable independiente es la resistencia bacteriana.

3.4.- Población y muestra.

3.4.1.- Población

Se trabajó con 30 pacientes de 18 a 50 años de edad diagnosticados con salmonelosis en el Hospital Corazón Inmaculado de María.

3.4.2.- Muestra

El estudio se realizó con la población total por cuanto no se establece una muestra específica.

3.5.- Operacionalización de variables

3.5.1.- Variable Dependiente: Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
<p>Inflamación intestinal Producida por la bacteria <i>Salmonella</i> spp. y sus toxinas. Se caracteriza por un síndrome diarreico, acompañado o no de vómitos y dolor abdominal.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toxinas Bacterianas ✓ Síndrome diarreico 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Endotoxinas ✓ Exotoxinas ✓ Fiebre ✓ Dolor abdominal ✓ Vómito ✓ Diarrea 	<p>¿Cuáles son los mecanismos de toxicidad producidas por la bacteria <i>Salmonella</i> spp.?</p> <p>¿Cuáles son las características de Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp.?</p>	<p>Observación</p> <p>Observación</p>	<p>Hojas de registro</p> <p>Historia clínica</p> <p>Encuesta</p>

Tabla 1.- Variable Dependiente: Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

3.5.2.- Variable Independiente: Resistencia bacteriana.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Es la capacidad de soportar los efectos de los antibióticos, por diversos factores principalmente por la captación de nuevo material genético y las mutaciones del cromosoma bacteriano.	✓ Inmunidad a los antibióticos	Gentamicina 10ug 12mm Amp/Sulb. 10ug 11mm Ceftriaxona 30ug 13mm Cotrimoxazol 1,25ug 10mm Ciprofloxacina 5ug 15mm Cloramfenicol 30ug 12mm	¿Cuáles son los antibióticos a los que presenta resistencia bacteriana?	Observación Halo de inhibición en el Antibiograma	Coprológico/copro parasitario Coprocultivo y Antibiograma Hojas de registro
	✓ Transferencia Genética	- Transducción - Conjugación - Transformación	¿Cuáles son los mecanismos de transferencia genética?	Observación	Antibiograma
	✓ Mutación del cromosoma bacteriano	- Modificación química de la diana del antib. - Inactivación Enzimática. - Síntesis de una nueva enzima. - Cambio de ADN bacteriano.	¿Cuáles los mecanismos de resistencia de la mutación genética?	Recopilación Documental	Bibliografía

Tabla 2.- Variable Independiente: Resistencia Bacteriana

3.6.- Recolección de información.

Preguntas	Explicación
¿Para qué?	Para alcanzar los objetivos propuestos en esta investigación
¿A quiénes?	A los pacientes de 18-50 años de edad atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María
¿Cómo?	Mediante coprocultivo y antibiograma
¿Con que?	Libro de registro de cultivos del área de microbiología.
¿Cuándo?	En año 2014
¿Cuántas veces?	Una vez
¿Quiénes?	Franklin Iván Gallegos Torres
¿Qué técnica de recolección?	Observación
¿Sobre qué aspectos?	Resistencia bacteriana en pacientes atendidos con Gastroenteritis por <i>Salmonella</i> spp.
¿Dónde?	Área de Microbiología del Hospital Estatal de Baeza.

3.7.- Procesamiento y análisis.

Se realizó el cultivo de 118 muestras de heces fecales de los pacientes diagnosticados con gastroenteritis bacteriana aguda que fueron atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María del cantón El Chaco. Lo cual fue respaldado con información de las historias clínicas, y verificado mediante encuestas dirigidas a los pacientes. Posteriormente se realizó la identificación de 30 pacientes con Salmonelosis mediante pruebas bioquímicas que se efectuaron en el departamento de microbiología del Hospital Estatal de Baeza, lo cual corresponde a la población en estudio.

3.7.1.- Examen coprológico y coproparasitario.

El estudio en el laboratorio de muestras fecales de origen humano permite obtener datos con los cuales determinar:

- Situación del funcionalismo digestivo.
- Infecciones intestinales causadas por bacterias, virus y hongos.
- Infecciones por parásitos intestinales o de órganos anejos.

Procesar la muestra antes de dos (2) horas. Si esto no es posible, mantener las muestras en refrigeración o temperatura de 4° Centígrados.

3.7.1.1.- Examen macroscópico (físico):

La inspección de las heces es importante, ya que puede conducir a un diagnóstico de infección parasitaria, ictericia obstructiva, diarrea, malabsorción, obstrucción rectosigmoidea, disentería o colitis ulcerosa, o pérdida de sangre en el conducto gastrointestinal.

- a. Debe anotarse la consistencia (especificando si son pastosas, blandas, semilíquidas ó líquidas ó duras) y color del excremento (café, amarilla, rojiza, negruzca, verdes, etc)

- b. Los proglótides o gusanos adultos se pueden detectar en el examen general, manchas de sangre o moco, y, la presencia de restos alimenticios.

Color: Normalmente las heces son de color pardo de diferente intensidad, este color se debe a la presencia de urobilina, varía de acuerdo a la ingestión de alimentos y medicamentos.

Olor: Las sustancias aromáticas provenientes de la desaminación y descarboxilación del triptofano por las bacterias son las que le dan a la materia fecal el olor característico.

Consistencia: Normalmente las heces son blandas aunque moldeadas. Se observan heces extremadamente duras en el estreñimiento y líquidas por acción de purgantes, o por causas que originen diarrea. Esta consistencia puede ser: Líquida, blanda o dura.

Aspecto: Hay diferentes aspectos como son: Diarreico, cremoso, mucoide, granuloso, pastosa.

Reacción: La reacción y el pH de la materia fecal dependen del régimen alimenticio.

3.7.1.2.- Examen Microscópico:

En una lámina portaobjetos se colocan dos gotas, en la parte izquierda solución salina y en la derecha lugol, luego se toma con un palillo la muestra de materia fecal, se debe escoger la parte que tenga elementos anormales como sangre, moco, etc. y de otra parte para que así quede una muestra representativa, se homogeniza en la lámina primero en la solución salina y luego en el lugol, se le colocan los cubreobjetos. La suspensión no debe quedar muy gruesa pero tampoco muy delgada.

- Residuos alimenticios: Fibras musculares: Se presentan en forma de cilindros con estrías longitudinales y transversales.
- Grasas neutras: Aparecen como esferas refringentes de diferentes tamaños.
- Ácidos grasos: Se observan como agujas incoloras.

- Almidones: Tienen formas irregulares y son refráctiles al agregar el lugol.
- Fibras vegetales: Se caracterizan por ser de doble pared, contienen clorofila y poseen un canal central muy marcado.
- Productos de irritación de la mucosa: Moco: Se observa en cualquier patología.
- Glóbulos Rojos: Su hallazgo indica lesión en la parte baja del aparato digestivo.
- Células epiteliales: Indican una excesiva irritabilidad.
- Bacterias: Carecen de significación clínica.
- Leucocitos: Si hay gran cantidad indica irritación bacteriana.
- Cristales de Charcot-leyden: Se ven en forma de rombos alargados.

3.7.1.3.- Examen parasitológico:

3.7.1.3.1.- Nematodos: Gusanos redondos

- *Ascaris lumbricoides*: Se observan huevos miden aprox. 45-75 x 30-50 mm, presenta una célula rodeada por tres capas, producen una patología de dolor de estómago y desnutrición.

3.7.1.3.2.- Cestodos: Gusanos planos

- *Taenia*: Los huevos miden 20-30 x 30-40 mm, son ovoides con membrana gruesa, amarillenta que se encuentra estriada en forma de empalizada y encierra un embrión de seis ganchos poco visibles. Produce trastornos nerviosos.

3.7.1.3.3.- Protozoarios:

- *Entamoeba histolytica*: Se observan quistes miden aprox. 20 mm se observa con cuatro núcleos. Pueden causar lesión de la mucosa intestinal.
- *Entamoeba coli*: Son quistes más grandes que los de histolytica, tiene más de cuatro núcleos. Es considerada como no patógena.

- *Giardia lamblia*: es un protozoo flagelado patógeno que parasita el tracto digestivo de humanos y otros mamíferos. Presenta un tamaño de 20 micras de longitud y 15 de ancho.

3.7.1.- Examen Microbiológico.

3.7.1.1.- Preparación de agares y medios.

3.7.1.1.1.- Agar MacConkey:

19,81 gr con 400 ml Agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir en las cajas Petri.

3.7.1.1.2.- Agar SS (*Salmonella Shigella*):

25,2 gr con 400 ml de Agua destilada

Hervir dos veces hasta que se disuelva el medio completamente, NO autoclavar, dejar que se enfríe y repartir en las cajas Petri.

3.7.1.1.3.- Caldo selenito:

2,3 gr con 100 ml de Agua destilada

Calentar ligeramente. Mezclar hasta disolver el medio por completo. Distribuir en tubos con tapa de rosca y esterilizar en baño maría durante 5 minutos. NO esterilizar, NO autoclavar.

3.7.1.1.4.- Agar Mueller Hinton:

15.2 gr con 400 ml Agua destilada

Hervir por dos veces, mezclar hasta que se disuelva completamente el medio. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe Finalmente repartir en las cajas Petri.

3.7.1.1.5.- Medio Sulfhídrico Indol Movilidad (SIM):

3.62 gr con 100 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Repartir 5ml en cada tubo, tapar. Autoclavar a 15 libras de Presión (121°C) durante 15 minutos.

3.7.1.1.6.- Urea Agar base:

5,05 g de Agar base de urea con 200 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Repartir 5ml en cada tubo. Dejar solidificar en pico de flauta.

3.7.1.1.7.- Agar de Citrato de Simmons:

2,42 gr con 100 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Repartir 5ml en cada tubo. Dejar solidificar en pico de flauta.

3.7.1.1.8.- Medio Voges Proskeuer-Rojo de metilo (MR-VP):

1,7 gr con 100 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Repartir 5ml en cada tubo. Dejar solidificar en pico de flauta.

3.7.1.1.9.- Agar Lisina:

3,45 gr con 100 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Repartir 5ml en cada tubo. Dejar solidificar en pico de flauta.

3.7.1.1.10.- Agar Triple Azúcar Hierro (TSI):

6,45 gr con 100 ml Agua destilada

Hervir por dos veces. Autoclavar a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos. Repartir 5ml en cada tubo. Dejar solidificar en pico de flauta.

3.7.1.2.- Técnica de siembra del Coprocultivo en Agar McConkey y Agar SS.:

- Obtenemos la muestra de heces fecales con un hisopo o aplicador estéril.
- Introducimos en el tubo con caldo selenito como medio de enriquecimiento para la proliferación de bacterias.
- Escurrimos en las paredes del tubo.
- Realizamos el estriado por agotamiento en Agar McConkey y *Salmonella Shigella* Agar.
- Incubamos de 48 a 72 hora a 37°C

3.7.1.3.- Identificación de colonias bacterianas:

- Crecimiento Agar McConkey.- Colonias incoloras, transparentes debido a que no son fermentadoras de lactosa.
- Crecimiento en *Salmonella Shigella* Agar.- Se observan colonias incoloras y con un punto central negro debido a que son productoras de H₂S.

3.7.1.4.- Tinción Gram:

- Tomamos parte de una colonia y realizamos un frotis circular en la placa porta objetos, posteriormente realizamos la fijación de la misma.
- Realizamos la coloración:
 - ✓ Colocamos cristal violeta durante 1 minuto y lavamos.
 - ✓ Solución de Lugol durante 1 minuto y lavamos.
 - ✓ Alcohol cetona durante 30 segundos y lavamos.
 - ✓ Finalmente colocamos Fucsina por 1 minuto o 30 segundos y lavamos.

✓ Dejamos secar, colocamos una gota de aceite de inmersión y observamos al microscopio con el lente de 100x.

- Reportamos según su forma: cocos, bacilos, cocobacilos, espiroquetas.
- Según su tamaño: cortos, largos.
- Según su coloración, Gram positivos: Color morado; Gram negativos: Color rojizo.

3.7.1.5.- Pruebas bioquímicas:

3.7.1.5.1.- Prueba de SIM.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una picadura, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas, añadimos 4 gotas de reactivo de Kovacs.

Movilidad. Prueba positiva: crecimiento a lo largo de la punción y en el seno del medio de cultivo. Prueba negativa: crecimiento a lo largo de la punción exclusivamente.

Producción de ácido sulfúrico. Prueba positiva: desarrollo de un color negro a lo largo de la punción que puede extenderse a todo el medio. Prueba negativa: ausencia de color negro.

Producción de Indol. Adicionar al tubo con medio SIM que presente crecimiento, de 0,2 a 0,3 ml de reactivo de Kovac. Prueba positiva: desarrollo de un anillo de color rojo. Prueba negativa: sin cambio de color.

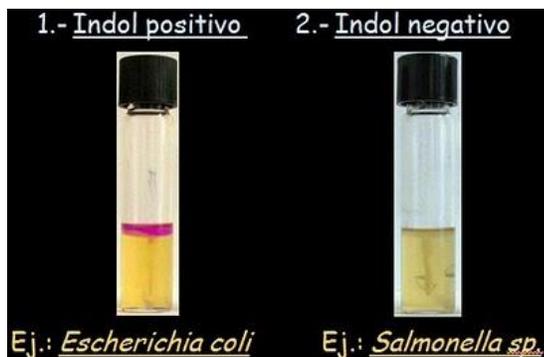


Gráfico 2. Prueba de SIM.

Fuente: [http://microbiologia-](http://microbiologia-onitoria.weebly.com/uploads/1/3/1/5/13153048_orig.jpg)

[onitoria.weebly.com/uploads/1/3/1/5/13153048_orig.jpg](http://microbiologia-onitoria.weebly.com/uploads/1/3/1/5/13153048_orig.jpg)

3.7.1.5.2.- Prueba de Urea.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una estría en pico de flauta, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas. Utilizar un control de medio para comparar el vire púrpura de las reacciones positivas con el color del medio original.



Gráfico 3. Prueba de Ureasa.

Fuente: http://images.slideplayer.es/1/27606/slides/slide_43.jpg

3.7.1.5.3.- Prueba de Citrato de Simons.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una estría en pico de flauta, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas. Prueba positiva: crecimiento acompañado de un cambio de color de verde a azul. Prueba negativa: ausencia de crecimiento y sin cambio de color.

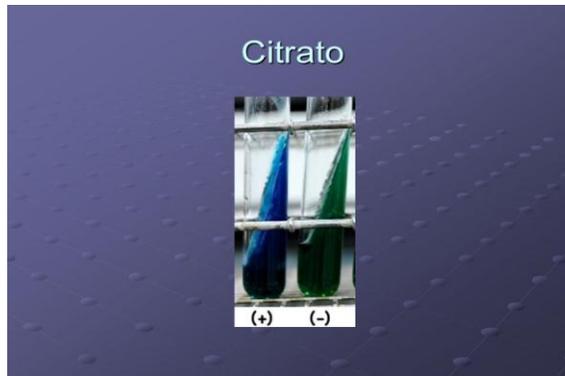


Gráfico 4. *Prueba de Citrato de Simons.*

Fuente: http://images.slideplayer.es/3/1086796/slides/slide_27.jpg

3.7.1.5.4.- Prueba de MR-VP.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una picadura, agitamos el asa, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas.

Prueba de Voges-Proskauer (VP)

Prueba positiva: desarrollo de color rojo ladrillo. Prueba negativa: sin cambio de color. Reincubar el resto del medio RM-VP 48 h más a 37°C.

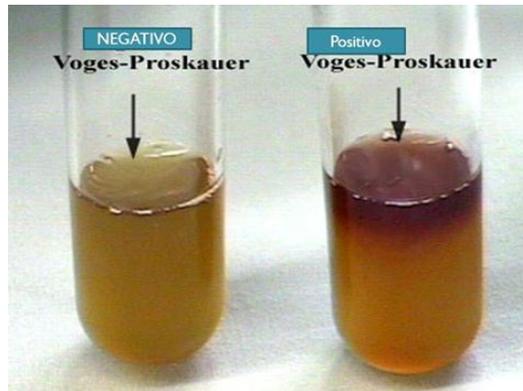


Gráfico 5. *Prueba de Voges-Proskauer (VP).*
Fuente: <http://i.ytimg.com/vi/WkGf-hq9QDE/0.jpg>

Prueba de rojo de metilo (RM)

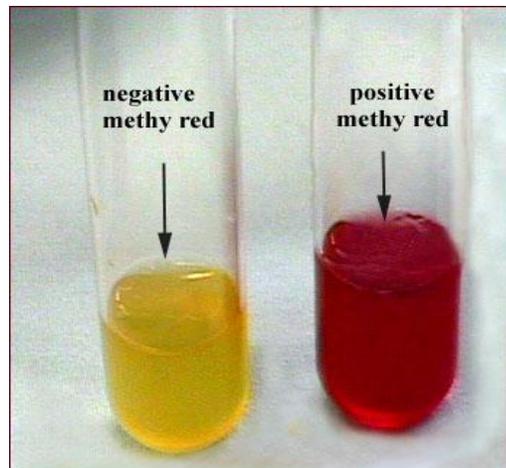


Gráfico 6. *Prueba de Rojo de Metilo.*
Fuente: <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2009/10/MRtest.jpg>.

Adicionar al medio de cultivo de 96 h de incubación de dos a tres gotas de solución de rojo de metilo. Interpretar los resultados inmediatamente. Prueba positiva: desarrollo de color rojo. Prueba negativa: desarrollo de color amarillo.

3.7.1.5.5.- Prueba de Lisina.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una picadura y estriamos en pico de flauta, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas. Se observa intensificación del color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina. Considerar negativos aquellos cultivos que produzcan claramente color amarillo en el fondo del agar. La mayoría de las cepas de *Salmonella* producen ácido sulfúrico en este medio con ennegrecimiento a lo largo de la punción



Gráfico 7. Prueba de Lisina.

Fuente: http://images.slideplayer.es/1/27606/slides/slide_49.jpg

3.7.1.5.6.- Prueba de TSI.

Con el asa esterilizada cogemos una colonia del agar de crecimiento, destapamos el tubo, realizamos una picadura y estriamos en pico de flauta, tapamos, encubamos a 37°C de 18-24 horas. En el fondo del tubo se observa vire del indicador debido a la fermentación de la glucosa; en la superficie del medio se observa un color rojo más intenso que el medio original debido a la no fermentación de la lactosa ni de la sacarosa. En la mayoría de los casos se observa coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de ácido sulfúrico.

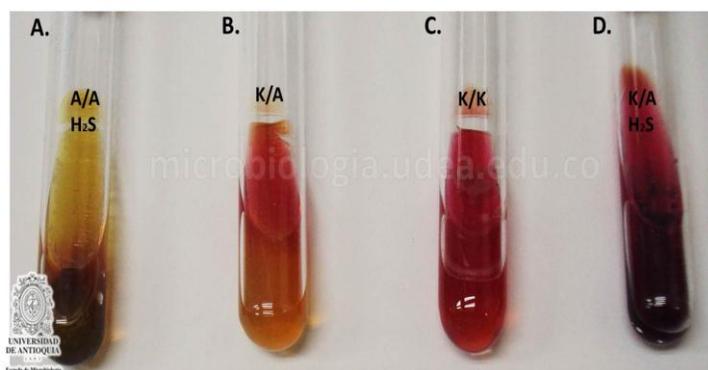


Gráfico 8. Prueba de TSI.

Fuente: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/743/Bacteriologia.jpg>

Tabla 3. Características de las Pruebas Bioquímicas para Identificación bacteriana.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	NEGATIVO	POSITIVO
Indol	SIN PRESENCIA DE ANILLO	PRESENCIA DE ANILLO ROJO EN LA PARTE SUPERIOR
Rojo de Metilo	SIN CAMBIO DE COLOR	VIRAJE DE COLOR ROJO
Voges Proskauer	SIN CAMBIO DE COLOR	VIRAJE DE COLOR ROJO LADRILLO
Citrato de Simons	VERDE	VIRAJE DE COLOR AZUL
Urea	AMARILLO	VIRAJE DE COLOR PÚRPURA
Lisina	COLOR AMARILLO EN EL FONDO	VIRAJE DE COLOR PÚRPURA EN EL FONDO
Movilidad	COLOR NEGRO EN EL SITIO DE LA INOCULACIÓN	COLOR NEGRO EN EL SITIO DE PUNCIÓN Y DISEMINACIÓN HACIA LOS EXTREMOS DEL TUBO.
H2S (TSI)	AUSENCIA DE COLOR NEGRO	COLOR NEGRO A LO LARGO DE LA PUNCIÓN Y EXTENDIDA
Producción de Ácido a partir de la lactosa (K/A)	AMARILLO / AMARILLO	FUCSIA / FUCSIA FUCSIA / AMARILLO FUCSIA / AMARILLO + H2S

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Tabla 4. Características de las Pruebas Bioquímicas para Identificación de *Salmonella*.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES	SALMONELLA
Indol	NEGATIVO	SIN PRESENCIA DE ANILLO
Rojo de Metilo	POSITIVO	ROJO
Voges Proskauer	NEGATIVO	SIN CAMBIO DE COLOR
Citrato de Simons	POSITIVO	AZUL
Urea	POSITIVO / NEGATIVO	PÚRPURA / AMARILLO
Lisina	POSITIVO	AMARILLO
Movilidad	POSITIVO	COLOR NEGRO DIFUNDIDO EN EL TUBO
H₂S (TSI)	POSITIVO	COLOR NEGRUZCO
Producción de Ácido a partir de la lactosa (K/A)	ALCALINO / ACIDO	FUCSIA / AMARILLO MAS PRODUCCIOÓN DE H ₂ S

Fuente: Análisis Microbiológicos
Elaborado por: El investigador

3.7.1.6.- Antibiograma - Método de Difusión del Disco en Agar (Baüer y Kirby).

3.7.1.6.1.- Fundamento

El antibiograma por el método de difusión en agar es una prueba en la que se enfrenta la bacteria inoculada sobre la superficie de un medio de agar a una solución antibiótica impregnada en un disco de papel de filtro o en pastillas. Este método fue estandarizado y los halos de inhibición obtenidos, correlacionados con la CIM por Baüer y cols., en 1966.

Este estudio dio lugar al método de Baüer-Kirby, que es el recomendado por la Food and Drug Administration (FDA) y el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (antiguo NCCLS), aunque con ligeras modificaciones. Varios factores afectan

el halo de inhibición: la carga del antibiótico en los discos, la difusión del antibiótico en el medio de cultivo, el tamaño del inóculo bacteriano, la composición y grosor del medio de cultivo, la velocidad del crecimiento bacteriano y el tiempo de incubación.

El medio de cultivo más frecuentemente utilizado es el de Müeller Hinton (MH), que permite el crecimiento de casi todas las bacterias. Este medio puede ser suplementado con un 5% de sangre de desfibrinada de caballo, carnero u otro animal, cuando la bacteria lo requiera para su desarrollo. El pH del medio debe estar entre 7,2 y 7,4 y el grosor, entre 4 y 6 mm. Los discos de antibióticos generalmente son adquiridos comercialmente, aunque también pueden ser preparados en el laboratorio, estos deben contener la cantidad establecida del antimicrobiano y ser conservados a 4°C protegidos de la humedad.

El inóculo bacteriano debe tener una turbidez similar al 0,5 de la escala de McFarland, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, y se prepara en solución salina estéril o caldo de cultivo, la inoculación del medio puede realizarse con un hisopo de algodón estéril. Las placas se deben incubar a 35°C (+- 1°C) en atmósfera aeróbica. Se debe evitar en lo posible la incubación en presencia de CO₂ (solo se debe utilizar en los casos que el microorganismo requiera esta atmósfera para crecer), ya que modifica el pH del medio y esto puede afectar la actividad de algunos antibióticos.

La lectura se debe realizar entre 18 y 24 horas; este método es adecuado únicamente para bacterias patógenas de crecimiento rápido; una incubación más prolongada puede dar lugar a interpretaciones erróneas del halo de inhibición. Después de la incubación, el diámetro de las zonas de inhibición es leído alrededor de cada disco, y el tamaño del halo interpretado en las tablas proporcionadas por el CLSI, esto permite hacer un reporte cualitativo de susceptible, intermedio y resistente.

Este método está estandarizado para microorganismos no fastidiosos de crecimiento rápido, sin embargo, el CLSI también describe modificaciones de este método estandarizadas para *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* y otros *Streptococcus*.

El procedimiento para estos microorganismos es similar al de los microorganismos no fastidiosos, sin embargo, para estos microorganismos fastidiosos, el medio de prueba se suplementa con nutrientes necesarios para el crecimiento de estos microorganismos. A todo microorganismo que no esté estandarizado por el CLSI para la realización del método de difusión del disco, se le debe determinar la susceptibilidad por un método de CIM.

3.7.1.6.2.- Ejecución.

Sacar las placas y los viales de discos del refrigerador y permitir que tomen temperatura ambiente antes de utilizarlos. Las placas pueden ser sacadas del refrigerador y colocadas en una incubadora a 35°C con la tapa ligeramente levantada para permitir eliminar el exceso de humedad. No dejar las placas en la incubadora por más de 30 minutos.

El inóculo para las pruebas de difusión en agar puede ser preparado de dos maneras:

- **Método de Suspensión Directa de Colonias.-** Tomar de una placa de agar no selectivo fresco (18 a 24 h de incubación) diferentes colonias y sembrar en un caldo nutritivo o solución salina fisiológica estéril. Este método se puede utilizar con cualquier microorganismo cuando esté disponible en cultivo joven (18- 24h). Se debe utilizar en bacterias que crecen lentamente o de manera impredecible en caldos. Este es el método que se debe utilizar siempre en *Staphylococcus*.
- **Método de Crecimiento en Fase Logarítmica.-** Tomar de 3 a 5 colonias aisladas y sembrar 3 a 5 ml de caldo. Incubar a 35°C de 2 a 8 horas hasta que el crecimiento alcance una turbidez igual o superior a la del estándar 0,5 de McFarland. Este método es el que se debe utilizar en bacterias no fastidiosas de crecimiento rápido cuando no están disponibles cultivos frescos, si se desea se puede utilizar también a partir de cultivos frescos.

Una vez preparado el inóculo, por cualquiera de los métodos (fase logarítmica o suspensión directa de colonias), se debe mezclar bien el tubo (en vortex preferiblemente) y ajustar la turbidez visualmente con solución salina estéril hasta alcanzar la turbidez del estándar 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Alternativamente, se puede estandarizar la suspensión espectrofotométricamente, un valor de absorbancia entre 0,08 y 0,13 a 625nm es equivalente al 0,5 de McFarland. Para la estandarización visual del inóculo se recomienda utilizar una tarjeta de fondo blanco con líneas negras (tarjeta de Wickerham) de diferente grosor para obtener mayor exactitud.



Gráfico 9. *Estandarización del inóculo.*
Fuente: Manual del (CLSI).

Preparación del Estándar 0,5 de McFarland.- Se utiliza un MacFarland 0,5. Para prepararlo se emplea 0,5 ml de 0,048 M de BaCl_2 (1,175% $\text{BaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$) en 99,5 ml de 0,18 M H_2SO_4 (1% v/v) con agitación constante. La absorción a 625 nm ha de estar entre 0,08 y 0,13 (comprobar cada mes). Alícuotas de 4 a 6 ml se distribuyen en tubos con tapón de rosca y se guardan en la oscuridad a temperatura ambiente.

Una vez estandarizada la suspensión, no pueden pasar más de 15 minutos para inocular las placas, para ello utilice un hisopo de algodón estéril, introdúzcalo en la suspensión y luego presiónelo contra las paredes superiores del tubo para eliminar el exceso de inóculo; luego inocule toda la superficie de la placa de agar con el hisopo tres veces, rote la placa de agar aproximadamente 60° entre cada inoculación, esto garantiza la uniforme distribución del inóculo y el rayado de toda la superficie. Una

vez inoculada la placa se debe permitir que el inóculo se absorba, esto se logra dejando la placa sobre el mesón de 3 a 15 minutos (pero no más de 15 minutos), antes de aplicar los discos.



Gráfico 10. *Inoculación de los Medios de Cultivo.*
Fuente: Manual del (CLSI).

Aplique los discos a la superficie del agar mediante un dispensador de discos o manualmente mediante una pinza estéril, aplique una ligera presión en la parte superior del disco para garantizar el completo contacto del disco con el agar, no coloque discos a una distancia menor a 24 mm de distancia centro-centro, en las placas de 150 mm no coloque más de 12 discos y en las de 100 mm no coloque más de 5. No mueva los discos una vez que han entrado en contacto con la superficie del agar. No deben pasar más de 15 minutos entre la colocación de los discos y la incubación de las placas.



Gráfico 11. *Colocación de Discos.*
Fuente: Manual del (CLSI)

Para la incubación, se deben invertir las placas e incubar de 16-18 h a 35°C (+- 1°C) en condiciones aeróbicas. Todos los *Staphylococcus* que son sensibles a penicilinas estables a penicilinasas (oxacilina y meticilina) después de 16-20 h de incubación, se deben reincubar de 4-8 h adicionales para un total de 24 h, y leer nuevamente el halo de inhibición a estas drogas.

Todos los *Enterococcus* que resulten sensibles a vancomicina después de 16-20 h de incubación, se deben reincubar de 4-8 h adicionales para un total de 24 h y leer nuevamente el halo de inhibición a vancomicina.

Posterior a la incubación, se procede a leer las placas, sólo si presentan una capa de crecimiento confluyente o semi-confluyente. Si el medio de cultivo utilizado es translucido (MH o HTM), se deben leer los halos de inhibición en el fondo de la placa sobre una superficie oscura utilizando luz reflejada.

Los halos de inhibición se deben medir en el fondo de la placa con ayuda de una regla milimetrada. Para medir los halos de inhibición de *Staphylococcus* con penicilinas estables a penicilinasas (oxacilina y meticilina) y vancomicina para *Enterococcus* se debe utilizar luz transmitida, esto se logra colocando la placa entre los ojos y una fuente de luz, de manera que la luz atraviese la placa, se deben examinar cuidadosamente en las zonas de inhibición, cualquier crecimiento dentro del halo de inhibición debe considerarse resistente.

Por el contrario, si el medio de cultivo es opaco (SH, SC) se debe remover la tapa de la placa y con ayuda de una regla milimetrada se mide el diámetro de los halos de inhibición en la superficie del medio con una fuente de luz reflejada.

Cuando se prueban microorganismos hemolíticos se debe asegurar que lo que se mide es el halo de inhibición del crecimiento bacteriano y no la zona de hemólisis. Cuando se ensayen cepas de *Proteus spp.* se debe ignorar el velo y medir el halo de inhibición presente debajo de este. Cuando se miden zona de inhibición para sulfonamidas, trimetoprim o trimetoprim/sulfametoxazol no tomar en cuenta el crecimiento ligero

en el interior del halo de inhibición (20% o menos del crecimiento normal) y medir el borde del margen más obvio de la zona. El crecimiento de colonias pequeñas dentro del halo de inhibición pueden representar un cultivo mixto o variantes resistentes, por lo que se debe sub-cultivar una colonia a un medio en placa, identificar y probar nuevamente la susceptibilidad, si el crecimiento de colonias pequeñas en el interior del halo de inhibición persiste, se debe medir la zona interna libre de colonias.

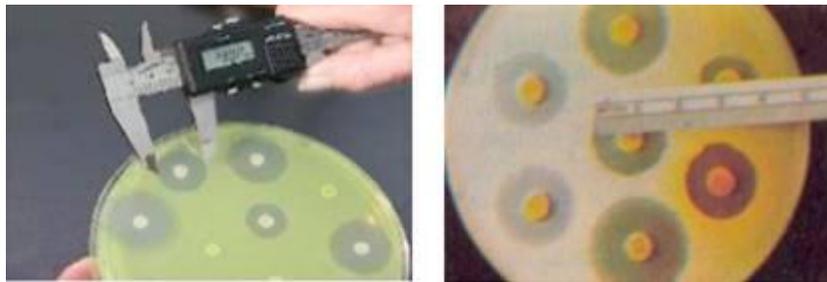


Gráfico 12. *Lectura de Halos de Inhibición.*

Fuente: Manual del (CLSI)

3.7.1.6.3.- Reporte de los Resultados.

Se deben utilizar las tablas del CLSI para la interpretación de los halos de inhibición para cada microorganismo y agente antimicrobiano. El reporte debe expresarse en resultados categórico de sensible (S), intermedio (I) o resistente (R).

Reglas Importantes para el Reporte.

- Todas las cepas de *Staphylococcus spp.* resistentes a oxacilina deben reportarse resistentes a todos los agentes betalactámicos (incluyendo combinaciones de betalactámicos-inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas, penicilinas y carbapenemas), sin importar su resultado en las pruebas de susceptibilidad in vitro.
- Ciertas combinaciones de microorganismos-agentes antimicrobianos no deben ser reportadas, debido a que resultados susceptibles pueden ser

peligrosamente malinterpretados por el médico y no son eficaces clínicamente.

- Para *Enterococcus spp.* no reportar sensibles cefalosporinas, trimetoprim/sulfametoxazol, clindamicina aminoglucósidos (excepto discos de prueba con alta carga de aminoglucósidos).
- En las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE no se deben reportar sensibles cefalosporinas, penicilinas y aztreonam. (Dra. Bonilla , Perozo , & Lic. Castellano , 2012)

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.- Análisis e interpretación

El presente proyecto de investigación se enfocó en la determinación e identificación de *Salmonella* spp. entre los pacientes que fueron atendidos y diagnosticados con Gastroenteritis Bacteriana Aguda; además de conocer los posibles factores de riesgo a los que están expuestos los mismo, lo cual permitiría la contaminación con este agente patógeno. También estuvo encaminado en descubrir las probables causas por las cuales los microorganismos desarrollan resistencia a los antibióticos especialmente en enfermedades gastrointestinales como es la salmonelosis.

Para esto se realizó un tamizaje por medio del examen coprológico y coproparasitario, con el fin de descartar otros agentes causantes de gastroenteritis, posteriormente se hizo el correspondiente coprocultivo para verificar o descartar si la bacteria causante de la patología es la *Salmonella* spp.; consecutivamente a esto realizamos el antibiograma para determinar la resistencia que presenta este microorganismo ante antibióticos de distintas familias como son la Ampicilina/Sulbactam, Gentamicina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Trimetoprim/sulfametoxazol.

Con la finalidad de obtener información de los posibles factores de riesgo para contraer esta patología se empleó la técnica de la encuesta a los pacientes que se confirmó mediante el cultivo que padecían salmonelosis. Posteriormente se detallará mediante tablas y gráficos los resultados que reflejaron las respuestas del cuestionario, y de los análisis del coprocultivo y antibiograma.

Finalmente la validación de la hipótesis se comprobó por medio de cuadros comparativos que reflejan los resultados del estudio de investigación.

Encuesta dirigida a los pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María.

Pregunta N° 1

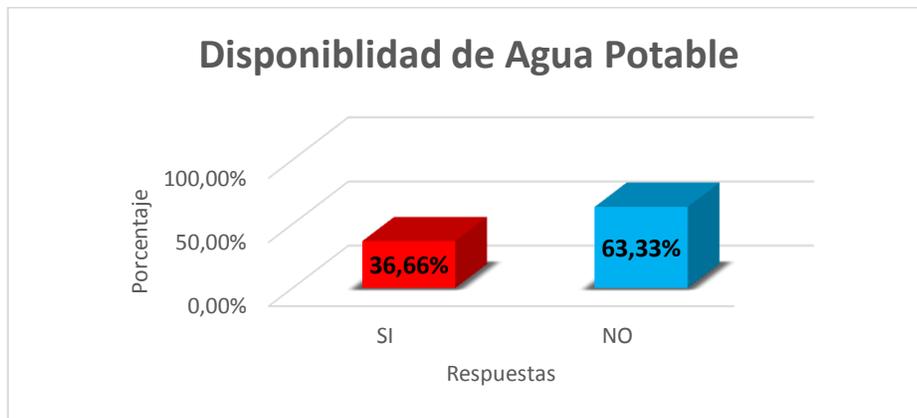
¿Dispone de Agua Potable en su domicilio?

Tabla 5. Disponibilidad de Agua Potable.

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	36,66	11
NO	63,33	19
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 13. Disponibilidad de Agua Potable.



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- De un total de 30 pacientes encuestados, el 63,33% no dispone de agua potable en su domicilio; mientras que el 36,66% cuentan con ese servicio.

Interpretación.- De los resultados obtenidos por medio de la encuesta se evidencia que la mayoría de los pacientes que fueron diagnosticados con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. no cuentan con agua potable debido a que sus domicilios están ubicados en las zonas rurales del cantón el Chaco, los mismos que no cuentan con todos los servicios básicos.

Pregunta N° 2

¿Con qué frecuencia ingiere alimentos en la calle?

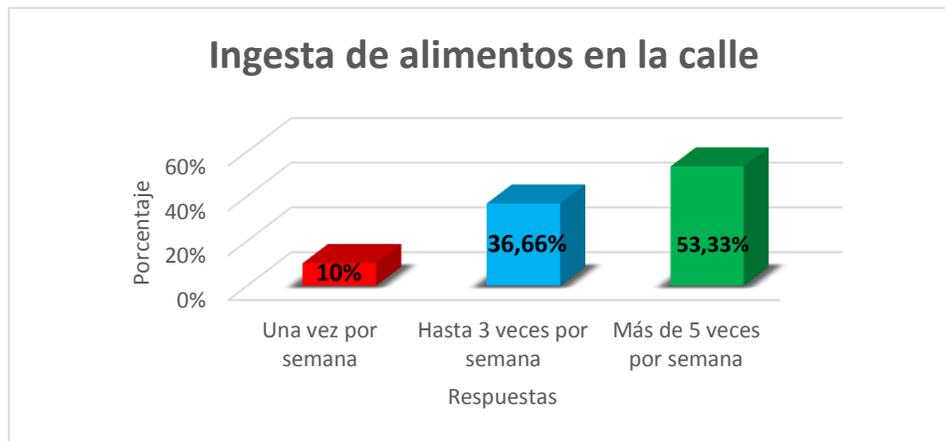
Tabla 6. *Ingestión de alimentos en la calle.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
Una vez por semana	10	3
Hasta 3 veces por semana	36,66	11
Más de 5 veces por semana	53,33	16
	99,99%	30

Fuente: Encuesta

Elaborado por: El investigador

Gráfico 14. *Ingestión de alimentos en la calle.*



Fuente: Encuesta

Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de los pacientes encuestados, el 53,33% afirmó que consume alimentos en la calle más de cinco veces por semana; mientras que el 36,66% lo hace hasta tres veces en la semana; y finalmente sólo el 10% de los mismos aseguró que ingiere alimentos fuera de casa por lo menos una vez a la semana.

Interpretación.- Podemos constatar que la mayoría de los pacientes que presentaron salmonelosis ingieren alimentos fuera de sus hogares siendo este un factor predisponente a contraer esta patología.

Pregunta N° 3

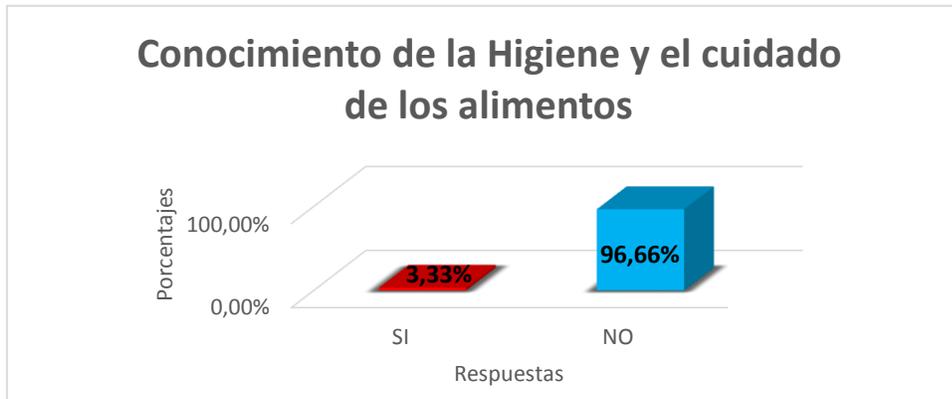
¿Ha recibido charlas o conferencias sobre la higiene y el cuidado de los alimentos que usted ingiere?

Tabla 7. *Ha recibido charlas sobre higiene y cuidado de los alimentos que ingiere.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	3,33	1
NO	96,66	29
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 15 *Ha recibido charlas sobre higiene y cuidado de los alimentos que ingiere.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de pacientes encuestados que presentaron salmonelosis el 96,66% aseguró que nunca ha recibido charlas acerca del cuidado que deben recibir los alimentos que ingieren, y el 3,33% ha tenido algún tipo de información concerniente a esto.

Interpretación.- La mayoría de los pacientes no han recibido la información necesaria para el cuidado, manipulación y almacenamiento de los alimentos antes de ingerirlos siendo altamente vulnerables a contraer infecciones alimentarias.

Pregunta N° 4

¿Ha sufrido de cuadros diarreicos en los últimos seis meses?

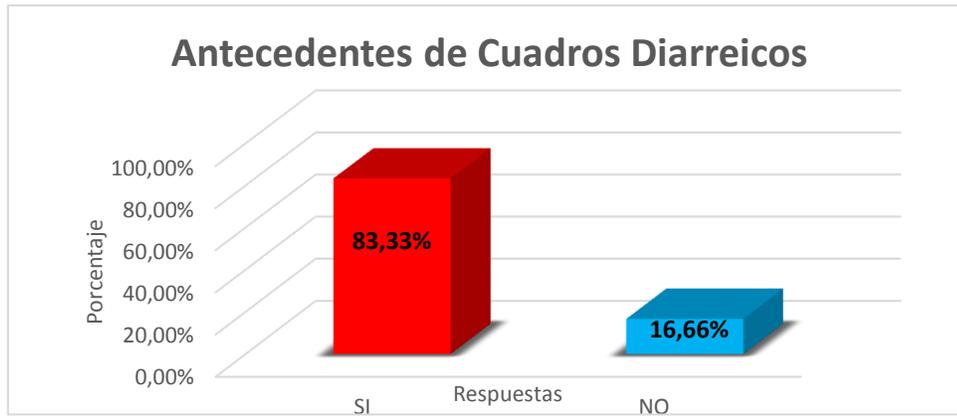
Tabla 8. *Antecedentes de cuadros diarreicos.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	83,33%	25
NO	16,66%	5
	99,99%	30

Fuente: Encuesta

Elaborado por: El investigador

Gráfico 16. *Antecedentes de cuadros diarreicos.*



Fuente: Encuesta

Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de pacientes encuestados que se verificó que el 83,33% ha tenido antecedentes de cuadros diarreicos, mientras que el 16,66% niega haber padecido en los últimos seis meses de ese estado patológico.

Interpretación.- Existe un alto porcentaje de pacientes que presentan cuadros diarreicos correlacionándose a la falta de información del tratamiento de los alimentos, sumado a esto la falta de agua potable lo cual influye directamente en adquirir dichos procesos diarreicos.

Pregunta N° 5

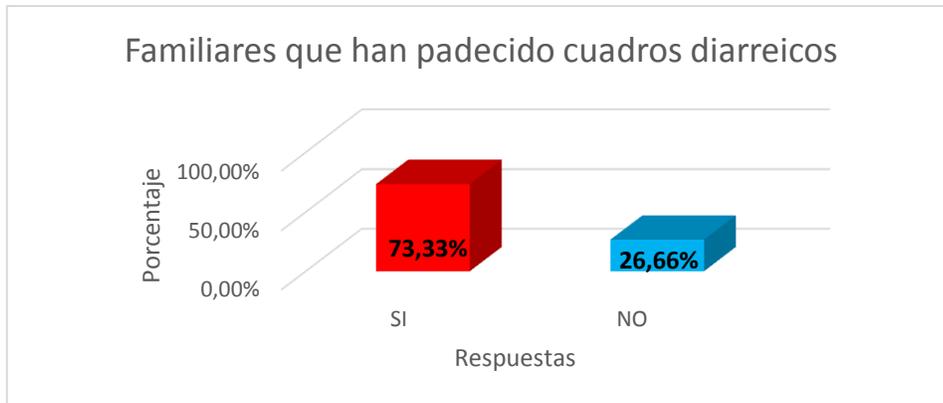
¿En su hogar algún otro miembro de la familia también ha padecido de cuadros diarreicos recientemente?

Tabla 9. Familiares que han padecido de cuadros diarreicos recientes.

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	73,33%	22
NO	26,66%	8
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 17. Familiares que han padecido de cuadros diarreicos recientes.



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- De los pacientes encuestados, el 73,33% afirmó que algún miembro de su familia también atravesó cuadros diarreicos en los últimos años, mientras que el 26,66% de ellos dijo que no han tenido ningún familiar con esa patología.

Interpretación.- La mayoría de pacientes y sus familiares presentan cuadros diarreicos demostrando que el foco infeccioso puede estar presente en sus hogares debido a las condiciones de aseo inadecuadas, y a la falta de información en relación al manejo correcto de los alimentos.

Pregunta N° 6

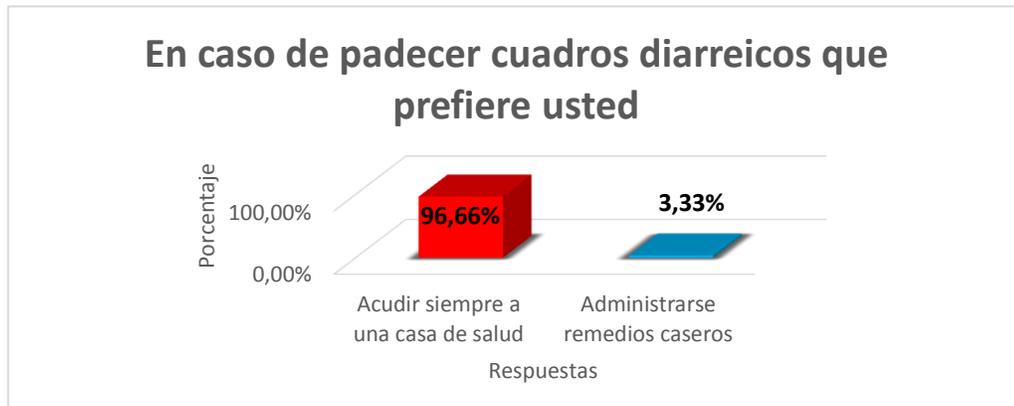
¿Cuándo usted padece de cuadros diarreicos usted prefiere?

Tabla 10. *En caso de padecer cuadros diarreicos que prefiere usted.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
Acudir siempre a una casa de salud	96,66%	29
Administrarse alimentos caseros y si no hay mejoría va al médico	3,33%	1
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 18. *En caso de padecer cuadros diarreicos que prefiere usted.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de pacientes encuestados, el 96,66% manifestó que en caso de padecer cuadros diarreicos acude a una casa de salud; mientras que tan sólo el 3,33% de los pacientes se administran remedios caseros y en el caso de no sentir mejoría visitan al médico.

Interpretación.- Existe un alto nivel de responsabilidad de los pacientes al no automedicarse y acudir a una casa de salud y así evitar complicaciones frente a cuadros diarreicos y posibles resistencias a los medicamentos.

Pregunta N° 7

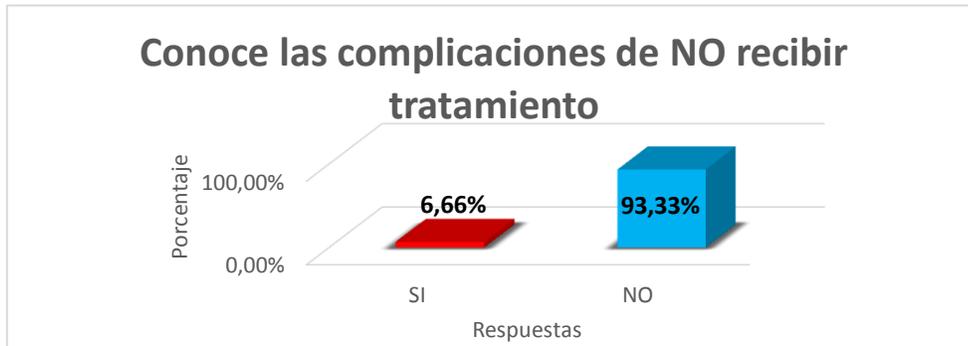
¿Conoce las complicaciones que conlleva el NO recibir un tratamiento oportuno ante un cuadro diarreico?

Tabla 11. *Conoce las complicaciones de NO recibir tratamiento.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	6,66%	2
NO	93,33%	28
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 19. *Conoce las complicaciones de NO recibir tratamiento.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de pacientes encuestados, el 93,33% manifestó que desconoce las complicaciones que conlleva el no recibir un tratamiento oportuno ante un cuadro diarreico, y tan sólo el 6,66% de los mismos tiene un leve conocimiento de los inconvenientes que pueden sufrir los pacientes si no son tratados a tiempo.

Interpretación.- El desconocimiento en la población sobre este tipo de enfermedades es la causa principal es la falta de atención oportuna siendo causante de complicaciones en el estado de la salud de los pacientes, hasta el punto de llegar a fatales consecuencias.

Pregunta N° 8

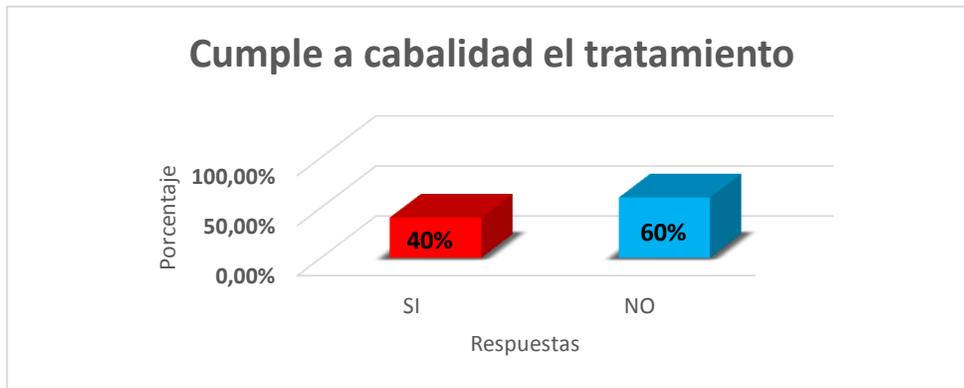
¿Usted cumple a cabalidad con la dosis y el tiempo del tratamiento indicado por el médico?

Tabla 12. *Cumple a cabalidad el tratamiento indicado por el médico.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	40%	12
NO	60%	18
	100%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 20. *Cumple a cabalidad el tratamiento indicado por el médico.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- De los pacientes encuestados el 60% afirmó que no cumple a cabalidad con el tratamiento indicado por el médico ya sea en tiempo o en la dosis establecida, mientras que el 40% aseguró que sigue íntegramente el tratamiento como lo receta el médico.

Interpretación.- La falta de conocimiento sobre los efectos de no concluir con un tratamiento médico puede ser uno de las principales causas para no cumplir estrictamente con el mismo, desarrollando resistencias a los antimicrobianos.

Pregunta N° 9

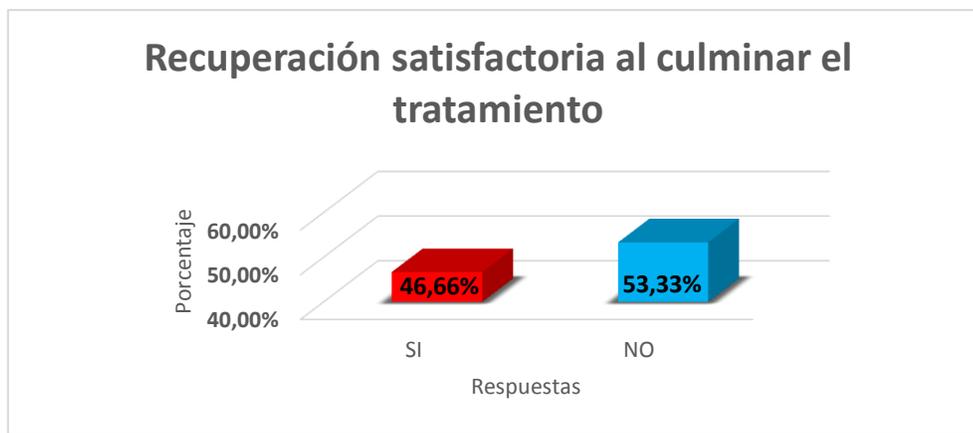
¿Usted se recupera satisfactoriamente al culminar con el tratamiento administrado?

Tabla 13. *Recuperación satisfactoria al culminar el tratamiento.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	46,66%	14
NO	53,33%	16
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 21. *Recuperación satisfactoria al culminar el tratamiento.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de encuestados, el 46,66% señalaron que se recuperan satisfactoriamente una vez terminado el tratamiento; mientras que el 53,33% manifestaron no se recuperan por completo al concluir la medicación.

Interpretación.- El elevado porcentaje de pacientes que no presentan una recuperación satisfactoria ante el tratamiento puede ser consecuencia de no haber concluido con el tratamiento indicado por el médico ya sea en tiempo o en dosis.

Pregunta N° 10

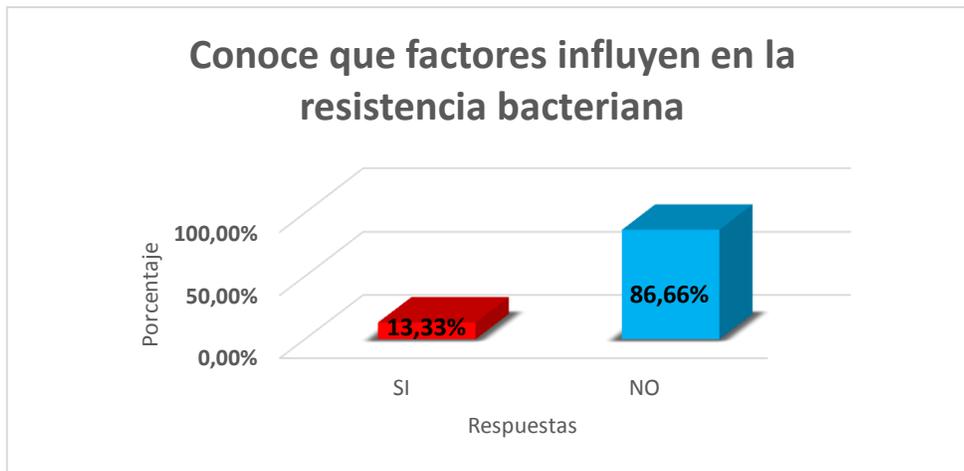
¿Conoce que factores influyen en la resistencia bacteriana?

Tabla 14. *Conoce que factores influyen en la resistencia bacteriana.*

Respuestas	Porcentaje	Frecuencia
SI	13,33%	4
NO	86,66%	26
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 22. *Conoce que factores influye en la resistencia bacteriana.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de encuestados el 86,66% desconoce de los factores que influyen en la resistencia bacteriana; mientras el 13,33% tiene conocimiento de lo que contribuye a crear resistencia a los antibióticos.

Interpretación.- El mayor porcentaje de pacientes encuestados desconoce las causas para que se presente la resistencia antimicrobiana siendo esta una problemática de la salud pública a nivel mundial, afectando a la economía y bienestar del paciente.

Análisis de Factores no modificables

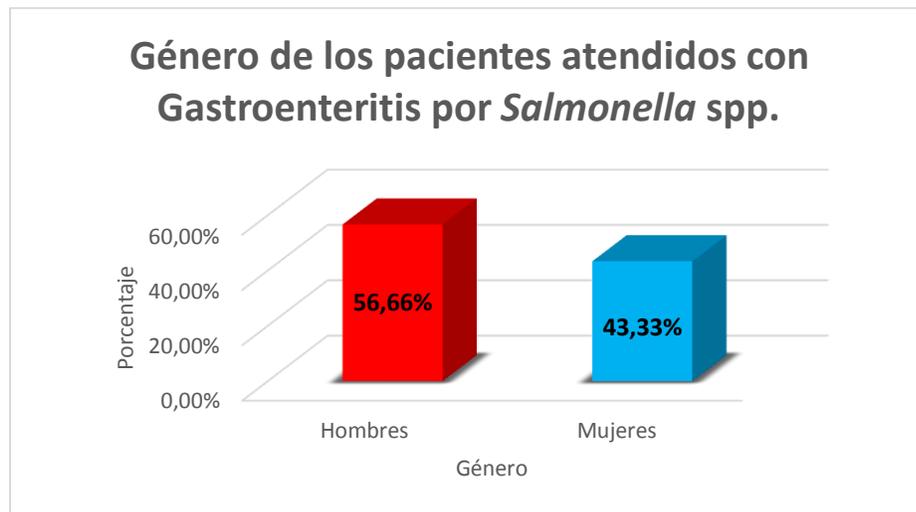
Género

Tabla 15. Análisis del género en pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

Género	Porcentaje	Frecuencia
Hombres	56,66%	17
Mujeres	43,33%	13
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 23. Análisis del género en pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp.



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de pacientes con salmonelosis, el 56,66% fueron hombres; y el 43,33% fueron mujeres.

Interpretación.- Por ser el género masculino generalmente el encargado de llevar el sustento diario a su familia pasa expuesto la mayor parte del tiempo a contraer enfermedades gastrointestinales, debido a que se alimentan fuera del hogar y siendo este un foco de contaminación latente.

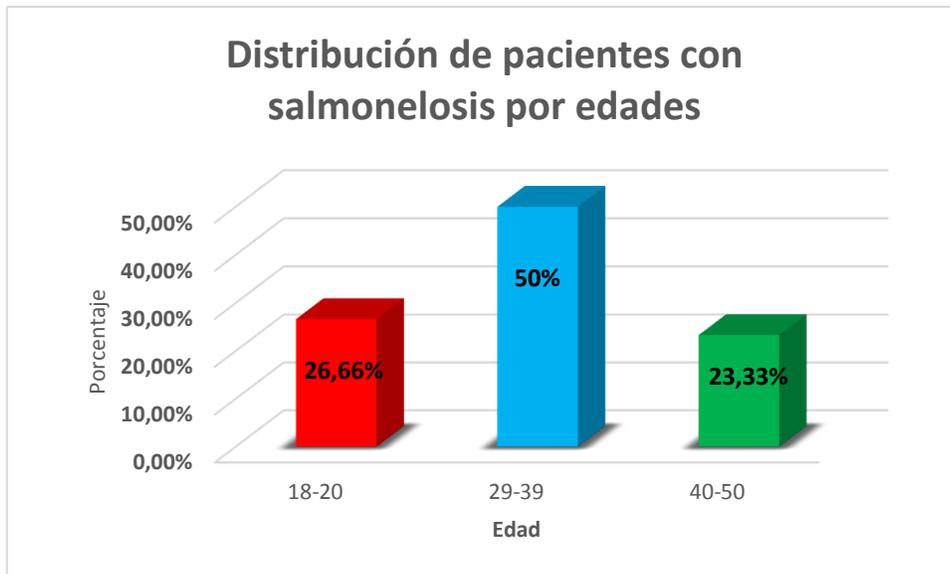
Edad

Tabla 16. *Distribución de pacientes con Salmonelosis por edades.*

Intervalo de Edad	Porcentaje	Frecuencia
18-20	26,66%	8
29-39	50%	15
40-50	23,33%	7
	99,99%	30

Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Gráfico 24. *Distribución de pacientes con Salmonelosis por edades.*



Fuente: Encuesta
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Entre todos los pacientes encuestados con salmonelosis, el 50% oscilan entre 29-39 años, el 26,66% tienen entre 18-20 años y el 23,33% tienen entre 40 y 50 años.

Interpretación.- En general la población económicamente activa está entre 29 y 39 años siendo este el mayor porcentaje de pacientes con salmonelosis, debido a los malos hábitos alimenticios como el ingerir comida en la calle, a causa de la poca disponibilidad de tiempo.

Análisis de la resistencia y sensibilidad de los fármacos en el antibiograma

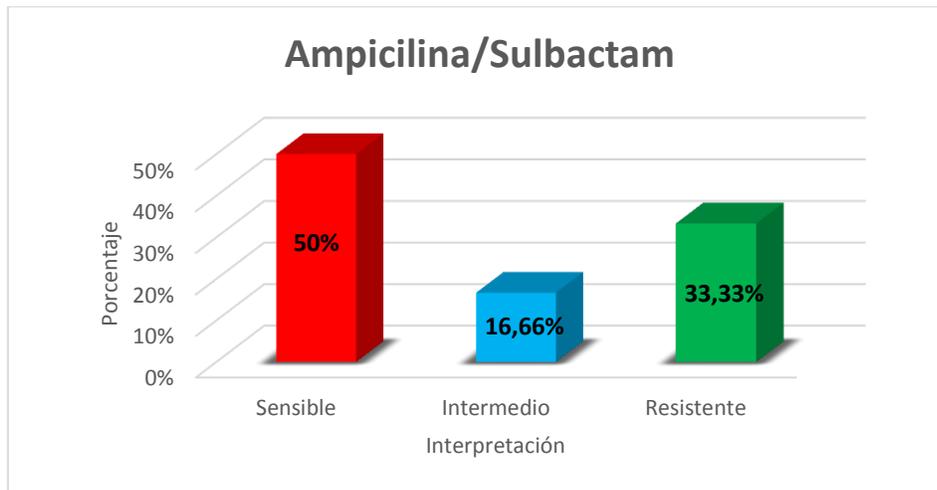
Ampicilina/Sulbactam

Tabla 17. Ampicilina/Sulbactam.

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	50%	15
Intermedio	16,66%	5
Resistente	33,33%	10
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos
Elaborado por: El investigador

Gráfico 25. Ampicilina/Sulbactam.



Fuente: Análisis Microbiológicos
Elaborado por: El investigador

Análisis.- Se analizaron 30 coprocultivos positivos para *Salmonella*, de los cuales el 50% resultó sensible a ampicilina/sulbactam; el 33,33% presentó resistencia y el 16,66% mostró sensibilidad intermedia al antibiótico.

Interpretación.- Existe un elevado índice de resistencia antimicrobiana ante la ampicilina/sulbactam siendo este un antibiótico de espectro extendido que pertenece a la familia de las penicilinas más un inhibidor betalactámico, pero que no es empleado con frecuencia en este tipo de patologías.

Gentamicina

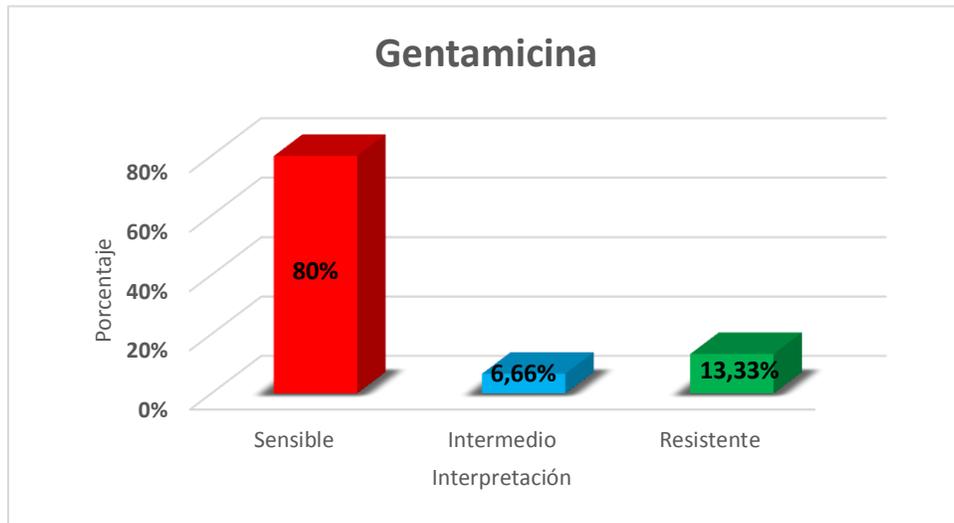
Tabla 18. *Gentamicina.*

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	80%	24
Intermedio	6,66%	2
Resistente	13,33%	4
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Gráfico 26. *Gentamicina.*



Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Análisis.- Del total de coprocultivos positivos el 80% fue sensible a Gentamicina, el 13,33% presentó resistencia, y el 6,66% reveló una sensibilidad intermedia.

Interpretación.- Siendo antibiótico perteneciente a la familia de los aminoglucosidos, al no ser un medicamento de elección para tratar enfermedades gastrointestinales no presenta un elevado porcentaje de resistencia ante la *Salmonella*.

Ciprofloxacina

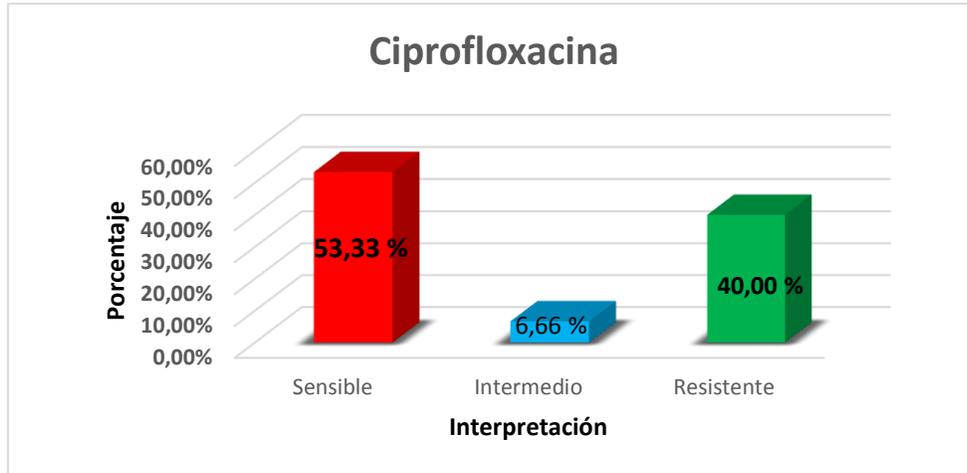
Tabla 19. Ciprofloxacina.

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	53,33%	16
Intermedio	6,66%	2
Resistente	40,00%	12
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Gráfico 27. Ciprofloxacina.



Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Análisis.- Al realizar el antibiograma de los cultivos de *Salmonella* positiva, el 53,33% tiene sensibilidad a Ciprofloxacina; el 40% tiene resistencia al antibiótico, y el 6,66% presentó sensibilidad intermedia al mismo.

Interpretación.- Este antibiótico pertenece a la familia de las fluorquinolonas y es el medicamento de elección en los últimos años, por lo cual de ahí se debe su incremento en el porcentaje con respecto a antecedentes de resistencia antimicrobiana en procesos gastrointestinales.

Clotrimoxazol (sulfametoxazol + Trimetoprim)

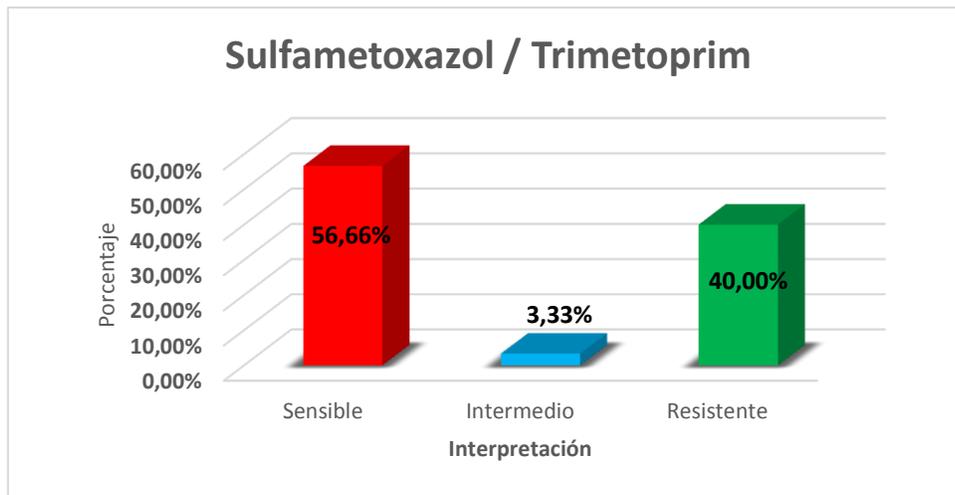
Tabla 20. *Sulfametoxazol + Trimetoprim.*

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	56,66%	17
Intermedio	3,33%	1
Resistente	40,00%	12
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Gráfico 28. *Sulfametoxazol + Trimetoprim.*



Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Análisis.- El 93,33% de los coprocultivos es sensible a Sulfametoxazol+Trimetoprim; mientras que 3,33% presenta resistencia y sensibilidad intermedia al antibiótico.

Interpretación.- Según los resultados obtenidos mediante el antibiograma el Sulfametoxazol+Trimetoprim conocido también como clotrimoxazol presenta un incremento en el nivel de resistencia con relación a estudios anteriores, por ser un medicamento frecuentemente administrado en pacientes con Salmonelosis.

Ceftriaxona

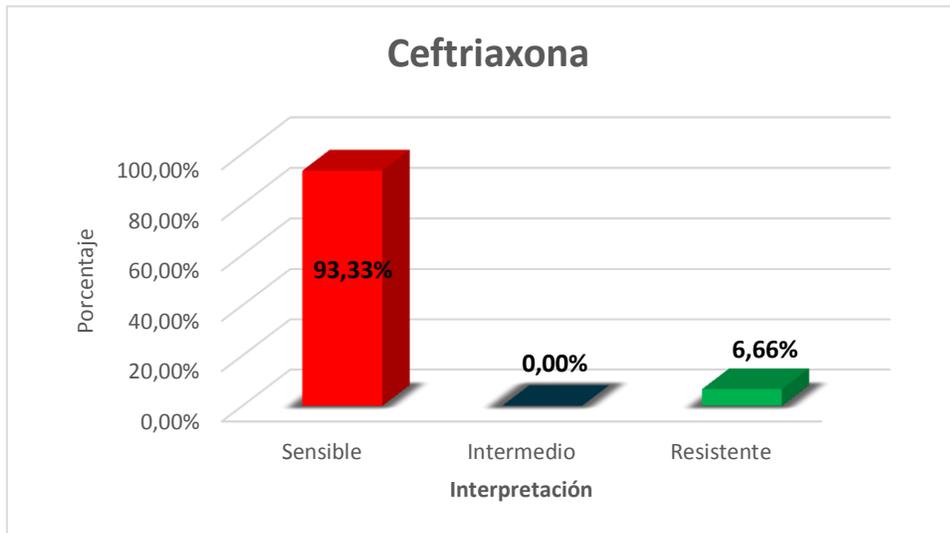
Tabla 21. *Ceftriaxona.*

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	93,33%	28
Intermedio	0,00%	0
Resistente	6,66%	2
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Gráfico 29. *Ceftriaxona.*



Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Análisis.- El antibiograma reveló que el 93,33% de los coprocultivos son sensibles a Ceftriaxona, y mientras que el 6,66% mostró resistencia al antibiótico.

Interpretación.- Según el antibiograma realizado a los pacientes con salmonelosis la ceftriaxona tiene un alto porcentaje de sensibilidad. Es un antibiótico de la familia de las cefalosporinas de tercera generación; su administración es exclusivamente intravenosa, por lo que se cumple a cabalidad con el tratamiento.

Cloranfenicol

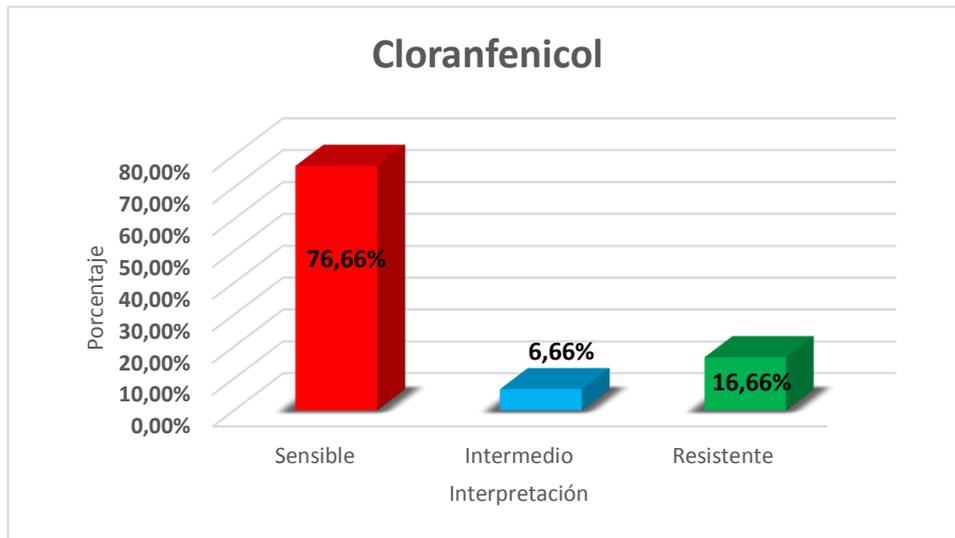
Tabla 22. *Cloranfenicol.*

Interpretación	Porcentaje	Frecuencia
Sensible	76,66%	23
Intermedio	6,66%	2
Resistente	16,66%	5
	99,99%	30

Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Gráfico 30. *Cloranfenicol.*



Fuente: Análisis Microbiológicos

Elaborado por: El investigador

Análisis.- De un total de 30 coprocultivos el 76,66% es sensible a Cloranfenicol; el 16,66% tiene resistencia; y el 6,66% mostró sensibilidad intermedia al antibiótico.

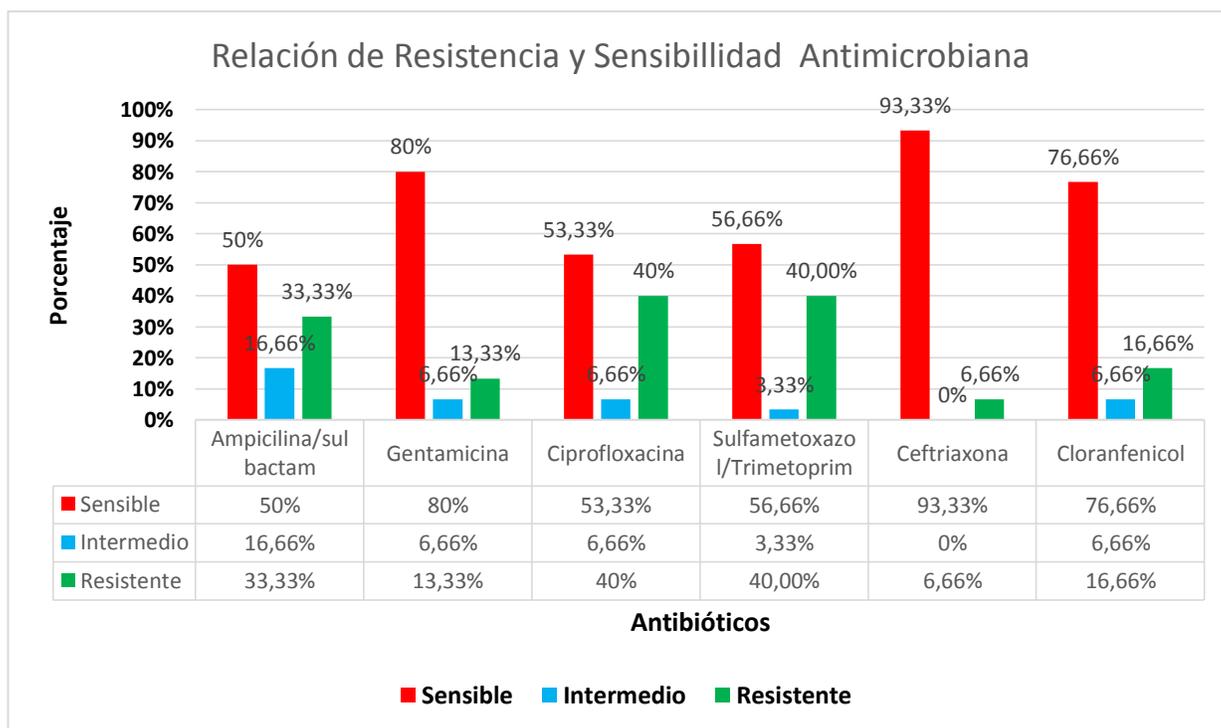
Interpretación.- Según los datos obtenidos el cloranfenicol es un medicamento altamente sensible para el tratamiento de salmonelosis, pero su administración es restringido por cuanto sus efectos adversos son nocivos e irreversibles (como el daño de la médula ósea, incluyendo anemia aplásica).

Tabla 23. Relación de Sensibilidad y Resistencia Antimicrobiana.

Antibióticos	Interpretación					
	Sensible	%	Intermedio	%	Resistente	%
Ampicilina/sulbactam	15	50%	5	16,66%	10	33,33%
Gentamicina	24	80%	2	6,66%	4	13,33%
Ciprofloxacina	16	53,33%	2	6,66%	12	40%
Sulfametoxazol/Trimetoprim	17	56,66%	1	3,33%	12	40,00%
Ceftriaxona	28	93,33%	0	0%	2	6,66%
Cloranfenicol	23	76,66%	2	6,66%	5	16,66%
	134	74,44%	12	6,66%	34	18,88%

Elaborado por: El investigador

Gráfico 31. Relación de Sensibilidad y Resistencia Antimicrobiana.



Mediante la tabla y el gráfico anterior se ilustró la relación de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia a los antibióticos empleados en el antibiograma para salmonelosis.

4.2.- Verificación de la Hipótesis.

Ho : La resistencia bacteriana no es elevada en pacientes que son atendidos por Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

Hi : La resistencia bacteriana es elevada en los pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp.

En vista que el resultado de resistencia antimicrobiana es menor al 50%, se rechazó la hipótesis alterna y se acepta a la hipótesis nula que enuncia lo siguiente: “La resistencia bacteriana no es elevada en pacientes que son atendidos por Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María del cantón El Chaco ”.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.- Conclusiones.

Al concluir el estudio de investigación sobre la resistencia bacteriana que presentan los pacientes atendidos con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en el Hospital Corazón Inmaculado de María del cantón El Chaco, se rechazó la hipótesis alterna y se acepta a la hipótesis nula, de los análisis e interpretaciones de los resultados obtenidos mediante el antibiograma.

- Según los datos obtenidos mediante la presente investigación se registraron 118 casos de Gastroenteritis bacteriana aguda; de los, en 30 pacientes fue identificado como el agente etiológico la *Salmonella* spp., lo que corresponde al 25,4% de los casos totales durante el periodo de estudio.
- Con las muestras de estudio de *Salmonella* spp. se procedió a realizar el respectivo antibiograma, con lo cual se obtuvieron los siguientes resultados:
 - ✓ La Amplicina/Sulbactam presentó un 33,33% de resistencia antimicrobiana, un 16,66% de sensibilidad intermedia, y un 50% de Sensibilidad.
 - ✓ La Gentamicina registró un 13,33% de resistencia bacteriana, un 6,66% de sensibilidad intermedia y un 80% de sensibilidad.
 - ✓ La Ciprofloxacina presentó un 40% de resistencia, un 6,66% de sensibilidad intermedia y un 53,33% de sensibilidad bacteriana.
 - ✓ El Sulfametoxazol/Trimetoprim se registró un 40% de resistencia bacteriana, un 3,33% de sensibilidad intermedia, y un 56,66% de sensibilidad.
 - ✓ La Ceftriaxona registró un 6,66% de resistencia antimicrobiana, un 93,33% de sensibilidad y no presentó sensibilidad intermedia.
 - ✓ El Cloranfenicol presentó un 16,66% de resistencia bacteriana, un 6,66% de sensibilidad intermedia y un 76,66% de sensibilidad.

El trabajo de investigación revela que el incremento de la resistencia bacteriana se da en los antibióticos que son usualmente administrados con mayor frecuencia en este tipo de patologías gastrointestinales.

Mediante este estudio microbiológico se identificó que la ciprofloxacina (40%) y el sulfametoxazol/trimetoprim (40%) son los principales antibióticos a los cuales presentó resistencia antimicrobiana las cepas de *Salmonella spp.* aislada en los coprocultivos realizados a los pacientes con Gastroenteritis Bacteriana Aguda que fueron atendidos en el Hospital Corazón Inmaculado de María.

- La presente investigación reflejó multiresistencia: a cinco de los seis antibióticos empleados en el antibiograma, siendo sensible solo a la ceftriaxona; mientras que ocho muestras resultaron resistentes a cuatro distintos antimicrobianos. Lo que demuestra que la multiresistencia bacteriana se incrementa progresivamente siendo un fenómeno que representa una problemática para la salud pública.

5.2.- Recomendaciones.

Con la finalidad de evitar que la resistencia bacteriana se convierta en un problema más para la salud a continuación se plantean las siguientes recomendaciones:

- Es aconsejable identificar el agente etiológico que provoca las gastroenteritis, con el objetivo de evitar el uso indiscriminado de antibióticos sin justificación.
- Mediante una Gigantografía:
 - ✓ Informar a los pacientes acerca de los problemas que conlleva el no cumplir a cabalidad con el tratamiento, ya sea en la dosis o en el tiempo indicado por el médico.
 - ✓ Advertir a los pacientes sobre las dificultades que provoca la resistencia antimicrobiana y las maneras con las que se puede prevenir este fenómeno.
 - ✓ Evitar a toda costa la automedicación.

- ✓ En caso de padecer cuadros diarreicos con frecuencia realizarse un coprológico, coproparasitario, cultivo y antibiograma para determinar la causa específica que está provocando la patología.

- Proponer la implementación de un área de Microbiología en el Hospital Corazón Inmaculado de María con la finalidad de apoyar al departamento médico con un diagnóstico oportuno mediante la identificación de las bacterias patógenas, y así colaborar con un tratamiento eficaz.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1.- Datos informativos

Tema:

Implementación del área de Microbiología en el Hospital Corazón Inmaculado de María del cantón El Chaco.

Lugar:

Cantón El Chaco, provincia de Napo.

Institución Ejecutora:

Hospital Corazón Inmaculado de María.

Beneficiarios:

Pacientes

Personal que labora en la institución

Equipo Técnico Responsable:

Investigador Franklin Iván Gallegos Torres.

Profesionales del área de laboratorio clínico

Tiempo estimado para la ejecución

Inicio: 01 de Agosto del 2014

Final: 01 de Diciembre del 2014

Costo:

Para la ejecución de la actual propuesta se invertirán 4000 dólares.

6.2.- Antecedentes de la Propuesta

Mediante el presente estudio se constató que en el Hospital Corazón Inmaculado de María nunca se ha desarrollado un proyecto de investigación orientado a la implementación de un área de Microbiología, por lo cual, si bien es cierto que la resistencia antimicrobiana no supera el 50% en los pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp. que fueron atendidos en la institución; este es un fenómeno que va creciendo aceleradamente y se está convirtiendo en una problemática para la salud pública, para lo cual se deberían ejecutar mecanismos de prevención del mismo.

Con la realización de esta investigación se comprobó que la resistencia bacteriana a los medicamentos de primera elección, como son la ciprofloxacina y el sulfametoxazol/trimetoprim se está incrementando en los pacientes a los cuales se identificó que el agente etiológico de la Gastroenteritis por la cual fueron atendidos es la *Salmonella* spp.; debido a factores como el incumplimiento del tratamiento administrado por el médico, desconocimiento de las posibles causas que conlleva a desarrollar el fenómeno de la resistencia y la automedicación.

La falta de exámenes complementarios como el coprocultivo y antibiograma antes de iniciar un tratamiento en pacientes con patologías gastrointestinales recurrentes, han hecho que la resistencia bacteriana sea significativa; ya que mediante el apoyo microbiológico se permite identificar la etiología de la infección y la sensibilidad a los antibióticos de la misma.

6.3.- Justificación

La Salmonelosis y las patologías asociadas con infecciones bacterianas afectan diariamente a la población mundial, de todo género, edad y estrato social; lo que resulta preocupante es el incremento del fenómeno de resistencia bacteriana a los

antibióticos de primera elección para las enfermedades gastrointestinales, siendo este el principal causante del fracaso de los tratamientos administrados a los pacientes.

Debido a los resultados obtenidos mediante el proyecto de investigación, y las exigencias emitidas por las autoridades del Ministerio de Salud Pública, del distrito de Salud N° 2; es necesario la Implementación de un Área de Microbiología en el Hospital Corazón Inmaculado de María, con la finalidad de prestar un mejor servicio a los pacientes ayudando con un diagnóstico veraz y confiable, en especial de las patologías infecciosas.

6.4.- Objetivos

6.4.1.- Objetivo General

Ayudar a identificar patologías asociadas a infecciones bacterianas.

6.4.2.- Objetivos Específicos

Establecer protocolos de diagnóstico y nuevos tratamientos en infecciones bacterianas.

Evitar uso indiscriminado de antibióticos.

Brindar un mejor servicio a la comunidad del cantón.

6.5.- Factibilidad

Una vez que se culminó con la investigación y se evidenció que la resistencia antimicrobiana se está incrementado en los antibióticos de primera elección en pacientes con Gastroenteritis por *Salmonella* spp., por lo cual es necesario realizar la implementación de un área de Microbiología en el Hospital Corazón Inmaculado de María.

La propuesta es totalmente Factible ya que cuenta con el apoyo total de las autoridades de la institución y del departamento de Laboratorio Clínico, tanto en el aspecto económico como en logístico; para lo cual existe el compromiso de capacitar al profesionales que estarán encargados de esta área; siendo conocedores de los beneficios que brinda la implementación de este nuevo departamento, no solo a los pacientes, sino también personal médico y por ende al desarrollo del Hospital.

Finalmente cuenta con el apoyo del personal médico, el cual es consciente de ayuda diagnóstica que permite contar con exámenes microbiológicos para reducir así el uso indiscriminado de antibióticos en patologías infecciosas, y disminuir así los casos de resistencia bacteriana.

6.6.- Fundamentación Científica Técnica

La Microbiología se puede definir, sobre la base de su etimología, como la ciencia que trata de los seres vivos muy pequeños, concretamente de aquellos cuyo tamaño se encuentra por debajo del poder resolutivo del ojo humano. Esto hace que el objeto de esta disciplina venga determinado por la metodología apropiada para poner en evidencia, y poder estudiar, a los microorganismos.

La Microbiología Médica estudia la diversidad de microorganismos patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos) que son capaces de producir en el hombre enfermedad. Recomendada para estudiantes de salud, especialmente para microbiólogos.

El estudio de los microorganismos: características, identificación, enfermedades que producen, transmisión, patogenia, tratamiento y prevención; así como las claves para la identificación en el laboratorio con los medios de cultivo, pruebas bioquímicas, protocolos para el procesamiento de muestras, procedimientos y preparación de sustancias y reactivos.

Un laboratorio de Microbiología es un lugar habilitado para manejar y estudiar microorganismos. El trabajo debe realizarse de acuerdo con los estándares técnicos y de seguridad propios de un laboratorio de Microbiología Clínica. Es importante recordar que la finalidad es determinar los microorganismos presentes en la muestra por lo que es preciso extremar las precauciones para evitar contaminaciones que den lugar a resultados erróneos. Todas las muestras deben ser manejadas con precaución por su potencial patogenicidad.

Los laboratorios deberán disponer de los aparatos e instrumental necesario para el correcto desarrollo de su actividad. Debe existir un procedimiento de control de calidad en el laboratorio de Microbiología Clínica que implique la monitorización de los medios e instrumentos, con el fin de asegurar la adecuada realización de los aislamientos, identificación y caracterización de los patógenos y la realización precisa de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos como referencia terapéutica.

El sistema de la calidad deberá contemplar la existencia de registros de formación de personal. Es imprescindible la existencia de un procedimiento sobre medidas de protección personal en el manejo de equipos y aparatos. Los equipos del laboratorio deben funcionar de forma que se asegure la reproducibilidad de los resultados de las pruebas diagnósticas. El laboratorio deberá estar bajo la dirección y responsabilidad de un facultativo con la especialidad correspondiente, legalmente capacitado para realizar aquéllas determinaciones clínicas que el laboratorio tenga autorizadas.

6.7.- Administración de la Propuesta

La administración de la propuesta estará dirigida por la Directora del Hospital Corazón Inmaculado de María, los responsables del departamento de laboratorio clínico y el investigador Franklin Iván Gallegos Torres. Para lo cual el investigador se encargará de presupuestar los equipos y materiales; así como los protocolos que se necesitan para la implementación del Área de Microbiología.

6.8.- Modelo Operativo.

Tabla 24. Modelo Operativo.

FASES	ACCIONES	METAS	RECURSOS	RESPONSABLE	RESULTADOS
Planificación	Elaboración de la propuesta.	Elaborar y presentar de la propuesta para ser aprobada.	Investigaciones bibliográficas.	Franklin Gallegos	Aprobación de la propuesta
Ejecución	Implementación del área de Microbiología	Realizar Exámenes Microbiológicos en enfermedades infecciosas.	Equipos, Materiales, agares, discos de antibióticos, personal de laboratorio.	Administrador de la Institución, Personal del laboratorio e Investigador	Diagnósticos microbiológicos de patologías infecciosas.
Evaluación	Cumplimiento de las actividades y del protocolo establecido.	Cumplir con el protocolo señalado.	Manual de procedimientos técnicos de Microbiología	Personal del laboratorio e Investigador	Resultados de Exámenes Microbiológicos.

6.9.- Plan de Monitoreo y Evaluación.

La propuesta será evaluada teniendo en cuenta los datos de la siguiente matriz:

Tabla 25. Evaluación.

Preguntas	Explicación
¿Quién solicita evaluar?	El investigador
¿Para qué avaluar?	Para verificar la efectividad y los objetivos de la propuesta
¿Qué evaluar?	Las actividades de la propuesta planteada
¿Quién evalúa?	El investigador
¿Cuándo evalúa?	Permanentemente
¿Cómo evalúa?	Por medio de protocolos
¿Con qué?	Indicadores
¿En dónde?	En el Hospital Corazón Inmaculado de María.

Elaborado por: El investigador

GLOSARIO

Aminoglucósidos.- Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos bacteriostáticos que detienen el crecimiento bacteriano actuando sobre sus ribosomas y provocando la producción de proteínas anómalas. Tienen actividad especialmente en contra de bacterias Gram negativas y aeróbicas y actúan sinérgicamente en contra de organismos Gram positivos.

Agar.- Es una gelatina vegetal de origen marino.

Cefalosporinas.- Son una clase de antibióticos beta-lactámicos. Las cefalosporinas son similares a las penicilinas, pero más estables ante muchas β -lactamasas bacterianas y, por lo tanto, tienen un espectro de actividad más amplio.

Cepas.- De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.

Concentración inhibitoria mínima (CIM).- Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.

Conjugación bacteriana.- Es el proceso de transferencia de material genético entre una célula bacteriana donadora y una receptora mediante el contacto directo o una conexión que las una.

CLSI.- Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.

Descarboxilación.- Es una reacción química en la cual un grupo carboxilo es eliminado de un compuesto en forma de dióxido de carbono (CO₂).

Escombroidosis.- Es una intoxicación relativamente frecuente por pescados en condiciones inadecuadas de conservación.

Estenosis.- es un término utilizado para denotar la constricción o estrechamiento de un orificio o conducto corporal. Puede ser de origen congénito o adquirido por tumores, engrosamiento o hipertrofia, o por infiltración y fibrosis de las paredes o bordes luminales o valvulares.

Fermentación.- Es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y el producto final es un compuesto orgánico.

Homogenización.- Proceso consistente en conseguir la homogeneidad de una mezcla de varias sustancias.

Inhibición enzimática.- Proceso de reducción de la actividad de las enzimas.

Inmunidad.- es un término médico que describe el estado de tener suficientes defensas biológicas para evitar la infección, enfermedad u otra invasión biológica no deseada. La inmunidad involucra tanto a componentes específicos y no específicos.

Locus.- Es una posición fija en un cromosoma, como la posición de un gen o de un marcador (marcador genético). Una variante de la secuencia del ADN en un determinado locus se llama alelo.

Multiresistencia.- Fenómeno que denota que una bacteria es resistente a más de uno o a varios antibióticos.

Mutación.- es una alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo por lo tanto, va a producir un cambio de características de éste, que se presenta súbita y espontáneamente, y que se puede heredar o transmitir a la descendencia.

Operón.- Se utiliza como una unidad genética funcional formada por un grupo o complejo de genes capaces de ejercer una regulación de su propia expresión por medio de los sustratos con los que interaccionan las proteínas codificadas por sus genes

Patogenicidad.- se define como su capacidad para producir enfermedad en huéspedes susceptibles. La patogenicidad se expresa clínicamente en proporción variable según los microbios y el hospedero, pero la regla es que hay convivencia pacífica.

Plásmido.- Los plásmidos son moléculas de ADN extracromosómico circular o lineal que se replican y transcriben independientes del ADN cromosómico.

Resistencia Bacteriana.- La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico.

Sistémico.- Significa que afecta al cuerpo entero en lugar de una sola parte o a un solo órgano.

Termolábil.- Dícese de una sustancia que se destruye o pierde sus cualidades a una temperatura determinada.

Toxina.- es una sustancia venenosa producida por células vivas u organismos, como animales, plantas, bacterias y otros organismos biológicos; para destacar su origen orgánico, se habla a veces también de biotoxina. Sustancias artificiales, creadas por procesos artificiales están excluidas de esta definición.

Transducción.- es la transformación de un tipo de señal o energía en otra de distinta naturaleza. Ver transductor. Más específicamente, transducción es un término que se utiliza en diversos campos

Transposón.- o elemento genético transponible es una secuencia de ADN que puede moverse de manera autosuficiente a diferentes partes del genoma de una célula, un fenómeno conocido como transposición. En este proceso, se pueden causar mutaciones y cambio en la cantidad de ADN del genoma. Anteriormente fueron conocidos como "genes saltarines" y son ejemplos de elementos genéticos móviles.

Transición.- Un tipo de mutación del ADN.

Virulencia.- deriva del latín virulentus, que significa lleno de veneno y designa el carácter patogénico y nocivo de un microorganismo, como una bacteria, hongo, protozoo, microalga o virus, o en otras palabras, la capacidad de un microbio de causar enfermedad.

SIGLAS

AAC.- acetiltransferasa.

AINE.- Antiinflamatorios NO esteroides.

APH.- fosfatidiltransferasa.

ANT o AAD.- adeniltransferasa.

ECEP.- *Escherichia coli* enteropatogénica.

ECET.- *Escherichia coli* enterotoxigénica.

ECEI.- *Escherichia coli* enteroinvasiva.

ECEH.- *Escherichia coli* enterohemorrágica.

ECEA.- *Escherichia coli* enteroagregativa.

GEBA.- Gastroenteritis Bacteriana Aguda.

GI.- Gastrointestinal.

OXA.- Oxacilinasas.

PPT.- Púrpura Trombocitopénica Trombótica.

PBP.- Proteína Ligadora de Penicilina.

PME.- Proteína de Membrana Externa.

SUH.- Síndrome Urémico Hemolítico

BIBLIOGRAFÍA:

1. Ángel, G., & Ángel, M. (2006). *Interpretación Clínica del Laboratorio* (séptima ed.). Editorial Médica panamericana.
2. Arias B., I., & Meza L., A. (2004). Resistencia Antimicrobiana de Salmonella, Shigella y Vibrio Cholerae. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 273.
3. Chandrasoma, P., & Taylor, C. (s.f.). *Patología General* (Tercera ed.). México: Manual Moderno.
4. Constitución del Ecuador. (2008).
5. Desarrollo, Ejecución e Interpretación de Pruebas de Susceptibilidad a los Agentes Antimicrobianos. (2010). Maracaibo.
6. Dra. Bonilla , X., Perozo , L., & Lic. Castellano , M. (2012). *Desarrollo, Ejecución e Interpretación de Pruebas de Susceptibilidad a los Agentes Antimicrobianos*. Maracaibo.
7. Finlay, C. J., Carrión , D., Chagas, C., Cruz, O., da Silva, C., & Uribe, C. (s.f.). *Fundamentos Básicos de Medicina: Microbiología de las infecciones humanas*.
8. McPhee, S. J., & Ganong, W. F. (2007). *Fisiopatología Médica: una introducción a la medicina clínica*. San Francisco: El Manual Moderno.
9. McPHEE, S. J., & HAMMER, G. D. (2011). *Fisiopatología de la Enfermedad: una introducción a la medicina clínica* (Sexto ed.). México: McGRAW HILL Interamericana.
10. McPhee, S., & Ganong, W. (2007). *Fisiopatología médica: una introducción a la medicina clínica* (Quinta ed.). San Francisco: Manual Moderno.
11. Mims, Playfair, Roitt, Wakelin, & Williams. (1999). *Microbiología Médica* (Segunda ed.). HARCOURT BRACE.
12. Quizhpe, A., Murray, M., Muñoz, G., Peralta , J., & Calle, K. (2011). La Resistencia Bacteriana en Ecuador. *ReAct Acción frente a las resistencia bacteriana, Latinoamérica*, 15.
13. Regimen del Buen Vivir. (2008). En A. Constituyente, *Contitución del Ecuador* (pág. 165.167).

14. Rivera Calderón, L. G., Motta Delgado, P. A., Cerón Urbano, M. F., & Chimonja Coy, F. A. (Junio de 2012). Resistencia de Samonella a los Antimicrobianos convencionales para su tratamiento. *Scielo*, 7(1), 115-127.

LINKOGRAFÍA:

1. Aguilar, A., Segura, C., & Boscá, A. (2005). Recuperado el 16 de Junio del 2014. Disponible en <http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/gea.pdf>
2. Arias Bustamante, I., & Meza, A. (1997-2002). *Scielo*. Recuperado el 05 de Mayo del 2014. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342004000400011
3. Constitucional, A. (6 de 10 de 2008). *Constitucion del Ecuador de la salud* . Recuperado el 05 de 02 de 2014, de Constitucion de la repiblica del Ecuador: Disponible en http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/instructivo_vigilancia_sanitaria__revisado_el_18_y_19__de_julio_msp_e_inh_1-1.pdf
4. Gerald L. Mandell, J. E. (2010). (Dolin, Ed.) Recuperado el 05 de Mayo del 2014. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Gastroenteritis>
5. García, J., Paniagua, J., Pelayo, R., & Isibasi, A. (1992). *Factores de virulencia de salmonella typhi en relación al desarrollo de nuevas vacunas*. Recuperado el 12 de Junio del 2014. Disponible en <http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=001746>
6. Gervas, D. (2000). Resistencia a los antibioticos, un problema de salud pública. Recuperado el 24 e Junio del 2014. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Resistencia_a_antibi%C3%B3ticos
7. Gobierno del Ecuador. (2008). *Buen Vivir*, de Régimen del buen vivir. Recuperado el 20 de Diciembre del 2013. Disponible en http://www.movimientoecuador.co.uk/TITULO_VII_-_REGIMEN_DEL_BUEN_VIVIR-t-81.html
8. Hora, D. L. (16 de Abril de 2005). *Gastroenteritis Alarma a la Población*. Recuperado el 15 de Agosto de 2014. Disponible en http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1000321190/-1/Gastroenteritis_alarma_a_la_poblaci%C3%B3n.html#.UneXFHBHibw
9. Mandell, G. L. (2010). *Wikipedia*. Recuperado el 24 de Junio del 2014. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Gastroenteritis>

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA.

- EBRARY. Lepe Jiménez, José Antonio, Garrido Serrano, Antonio, and Guerrero Igea, Francisco Javier (2006). Sensibilidad reducida a ciprofloxacino en los aislados de "salmonella entérica" de la zona norte de Huelva. Recuperado el 10 de Noviembre del 2014. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10127786&p00=sensibilidad%20reducida%20ciprofloxacino>.
- EBRARY. Rodríguez Peña, José Manuel. (2006) Mapa génico del plásmido de virulencia de *Salmonella* enteritidis y caracterización de regiones homólogas del cromosoma de *Salmonella* typhi. Recuperado el 10 de Noviembre del 2014. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10117235&p00=plasmidos%20salmonella>
- EBRARY. Wilhelmi de Cal, Isabel (2006). Gastroenteritis aguda en niños del área sanitaria IX de Madrid: análisis microbiológico, clínico y epidemiológico de la patología asociada a virus. Recuperado el 10 de Noviembre del 2014. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10115399&p00=bacterias%20enteropatogenas>.
- EBRARY. Barreto Argilagos, Guillermo, Sedrés Cabrera, Martha, and Rodríguez Torrens, Herlinda. (2010) Agentes bacterianos asociados a brotes de Enfermedades Trasmitidas por Alimentos (ETA) en Camagüey, Cuba. Recuperado el 10 de Noviembre del 2014. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10411129&p00=bacterias%20enteropatogenas>
- EBRARY. Larrosa Haro, Alfredo. Utilidad del estudio de las heces para el diagnóstico y manejo de lactantes y prescolares con diarrea aguda. (2006) Recuperado el 10 de Noviembre del 2014. Disponible en <http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10168563&p00=bacterias%20enteropatogenas>

10. Quizhpe, A., Murray, M., Muñoz, G., Peralta, J., & Calle, K. (2011). Recuperado el 24 de Junio del 2014. Disponible en <http://www.reactgroup.org/uploads/who-we-are/rla/RLA-recuperar-la-salud>
11. Sandra Toledo, L., Avila Roo, Y., Paz Montes , A., Corpas Guerrero , C., Petit Capriles , K., & Ocando Vilchez , N. (Diciembre de 2007). (Scielo, Ed.) Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0075-52222007000200005&script=sci_arttext

ANEXOS

Anexo N° 1.- Formato del Consentimiento Informado.

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

He leído y comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera a mi cuidado.

Nombre del paciente:

Firma del Paciente:

Fecha:

Si es analfabeto.

Debe firmar un testigo que sepa leer y escribir (si es posible, esta persona debería ser seleccionada por el participante y no debería tener ninguna relación con el equipo de investigación). Los participantes analfabetos deberían incluir también su huella dactilar.

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que la persona ha dado el consentimiento libremente

Nombre del testigo:

Y huella dactilar del paciente Firma del testigo:

Fecha

He leído con exactitud el documento de consentimiento informado para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que la persona ha dado consentimiento libremente.

Nombre del investigador

Firma del investigador

Fecha

Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de consentimiento informado..... (Iniciales del investigador)

Anexo N° 2.- Encuesta dirigida a los pacientes atendidos con Gastroenteritis Bacteriana Aguda en el Hospital Corazón Inmaculado de María a los cuales se identificó que el agente causal es la *Salmonella spp.*

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA LABORATORIO CLÍNICO**

ENCUESTA

RESISTENCIA BACTERIANA DE *SALMONELLA spp.* EN PACIENTES DE 18 A 25 AÑOS DE EDAD ATENDIDOS POR GASTROENTERITIS BACTERIANA AGUDA EN EL HOSPITAL CORAZÓN INMACULADO DE MARÍA.

DATOS GENERALES:

Fecha de la encuesta _____ **Genero:** M F **Edad:** _____ años

INSTRUCTIVO: Lea detenidamente la pregunta y marque con una x la respuesta que crea conveniente.

1) ¿Dispone de agua potable en su domicilio?

SI NO

2) ¿Con qué frecuencia ingiere alimentos en la calle?

Una vez por semana Hasta 3 veces por semana Más de 5 veces por semana

3) ¿Ha recibido charlas o conferencias sobre la higiene y el cuidado de los alimentos que usted ingiere?

SI NO

4) ¿Ha sufrido de cuadros diarreicos en los últimos seis meses?

SI NO

5) ¿En su hogar algún otro miembro de la familia también ha padecido de cuadros diarreicos recientemente?

SI NO

6) ¿Cuándo usted padece de cuadros diarreicos usted prefiere: ?

Acudir siempre a una casa de salud Administrarse remedios caseros y si no hay mejoría va al médico

7) ¿Conoce las posibles complicaciones que conlleva el NO recibir un tratamiento oportuno ante un cuadro diarreico?

SI NO

8) ¿Usted cumple a cabalidad con la dosis y el tiempo del tratamiento indicado por el médico?

SI NO

9) ¿Usted se recupera satisfactoriamente al culminar con el tratamiento administrado?

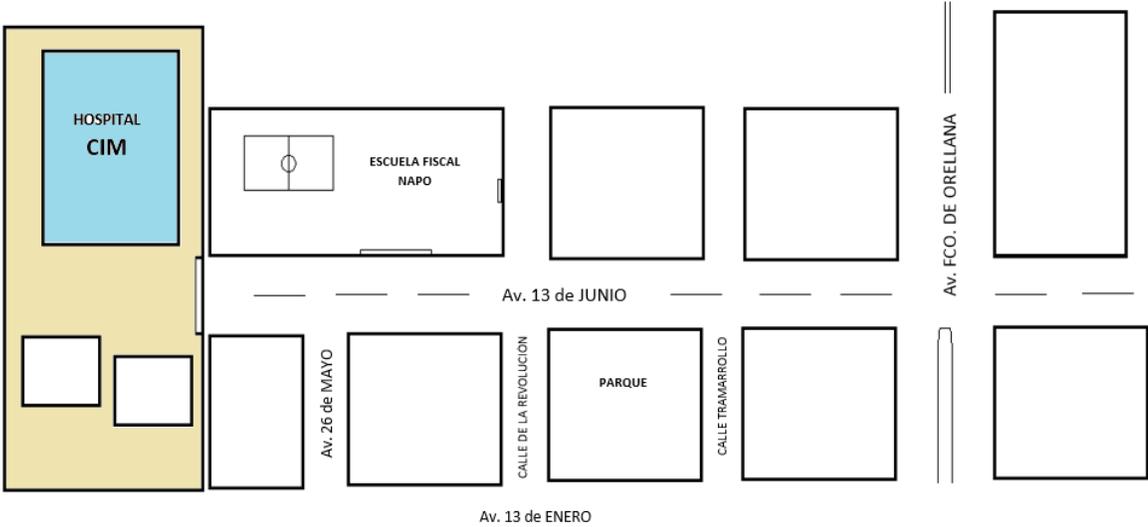
SI NO

10) ¿Conoce qué factores influyen en la resistencia de las bacterias bacteriana?

SI NO

ENCUESTADOR: Franklin Iván Gallegos Torres

Anexo N° 3.- Ubicación del Hospital Corazón Inmaculado de María.



Croquis del Hospital C.I.M.

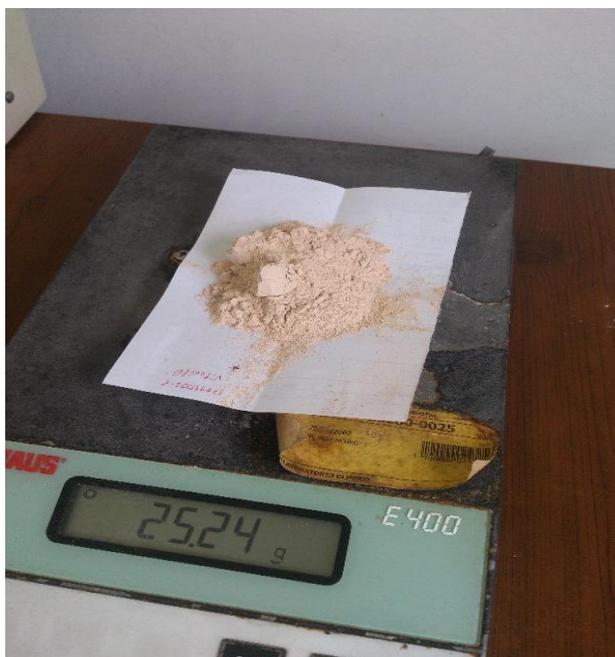
Anexo N° 4.- Código de Ética.

Cuando se trate de experimentos con seres humanos, es necesario indicar si los procedimientos empleados han respetado o no los criterios éticos del comité responsable de experimentación humana (local o institucional) y la declaración de Helsinki de 1975, enmendada en 1983. No se incluirán: ni los nombres de los pacientes, ni los números de codificación asignado por Hospital, especialmente si se trata de material ilustrativo.

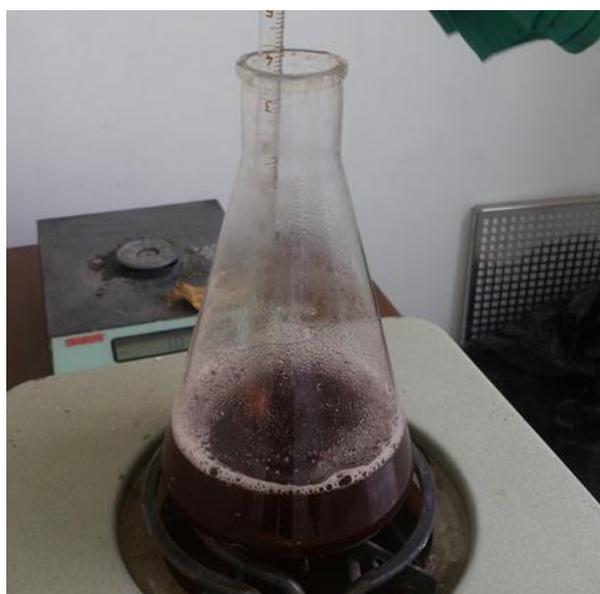
Anexo N° 5.- Características Diferenciales de las Principales especies de Enterobacterias.

PRUEBA	<u>Escherichia coli</u>	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	<u>Klebsiella oxytoca</u>	<u>Proteus mirabilis</u>	<u>Proteus vulgaris</u>	<u>Shigella spp.</u>	<u>Citrobacter freundii</u>	<u>Enterobacter cloacae</u>	<u>Salmonella</u>
INDOL	+	-	+	-	+	+/-	-	-	-
ROJO DE METILO	+	+/-	+/-	+	+	+	+	-	+
VOGES-PROSKAUER	-	+	+	+/-	-	-	-	+	-
CITRATO SIMONS	-	+	+	+/-	+/-	-	+	+	+
UREA	-	+	+	+	+	-	+/-	+/-	+/-
LISINA	+/-	+	+	-	-	-	-	-	+
MOVILIDAD	+/-	-	-	+	+	-	+	+	+
H2S (TSI)	-	-	-	+	+	-	+	-	+
PRODUCCIÓN DE ÁCIDO A PARTIR DE LA LACTOSA (A/A)	+	+	+	-	+	-	+	+/-	+/-

Anexo N° 6.- Fotos de la investigación.



Medición del agar SS.



Preparación de Agares



Autoclavar los medios de cultivo.



Inoculación en medios de enriquecimiento (caldo selenito)



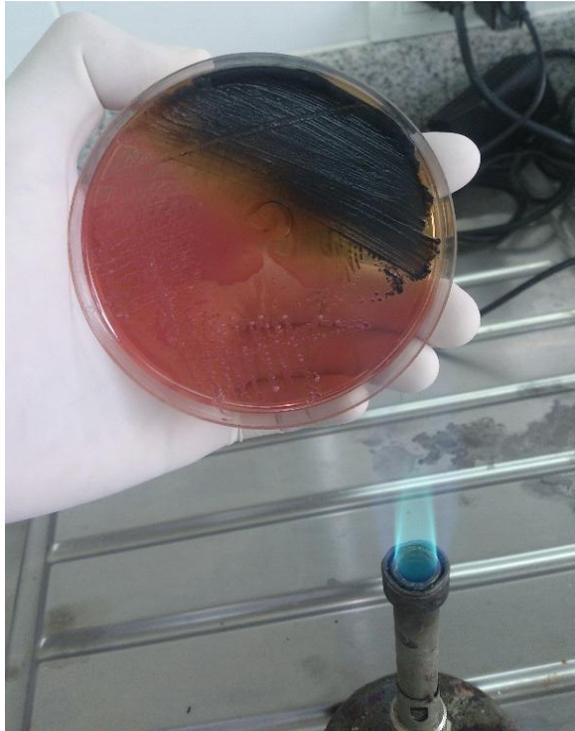
Enriquecimiento en caldo Selenito



Siembra de la muestra en Agar SS.



Colonias de *Salmonella* spp. en Agar SS.



Resiembra de una colonia de *Salmonella* spp.



Pruebas Bioquímicas sin inocular.



Pruebas Bioquímicas Positivas para *Salmonella*.



Toma de Colonias de *Salmonella*.



Estandarización del Inóculo.



Inoculación en el Agar Mueller Hinton.



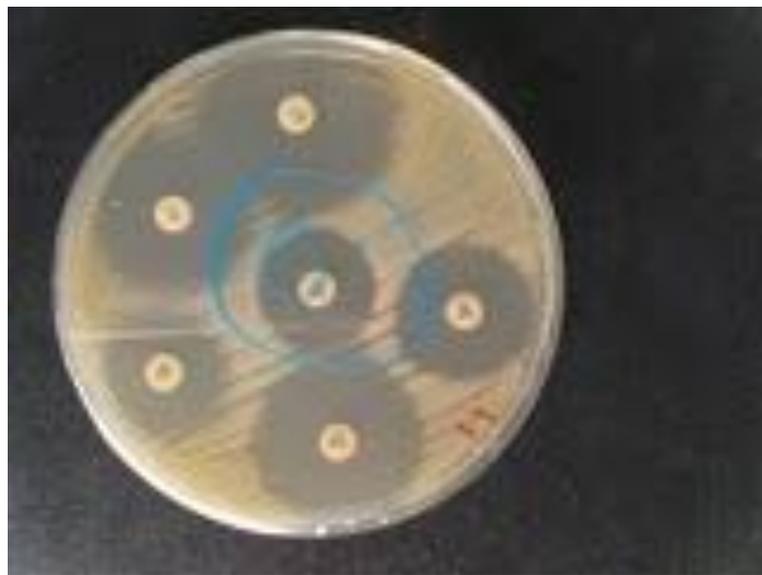
Colocación de Discos.



Informativo acerca de la resistencia bacteriana y cómo podemos evitarla.



Antibiograma del coprocultivo de *Salmonella* spp.



Antibiogramas multiresistentes

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE MICROBIOLOGÍA

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA DE MUESTRAS PARA CULTIVOS AERÓBICOS.

OBJETIVO

Realizar el procedimiento de siembra de las muestras microbiológicas que se reciben en laboratorio para cultivos aeróbicos en forma correcta para obtener resultados confiables. Esto permite obtener colonias aisladas de microorganismos para proceder a su estudio (identificación y susceptibilidad si corresponde).

RESPONSABILIDAD

Sección Microbiología, Servicio de Laboratorio.

DEFINICIONES

Siembra: técnica de inoculación de las muestras clínicas en los correspondientes medios de cultivo para ser sometidos a incubación en las condiciones establecidas para cada tipo de muestra.

Medio de cultivo: esta constituido por sustancias nutritivas que permiten el desarrollo de diferentes microorganismos de acuerdo a sus requerimientos. Pueden tener suplementos nutritivos e inhibidores. Se clasifican según estado físico (sólidos, líquidos y semisólidos), presentación (en placas o tubos) y contenido de nutrientes.

Medios básicos: son la base para la preparación de otros medios, contienen los nutrientes esenciales, se desarrollan bacterias poco exigentes.

Medios mejorados o enriquecidos: son los medios básicos a los que se les ha agregado sustancias de alto valor nutritivo (por ejemplo sangre, vitamina) favoreciendo el desarrollo de bacterias más exigentes.

Medios selectivos: Medio al cual se le agrega un inhibidor que permite el desarrollo de solo ciertas bacterias, inhibiendo a otras ej. Agar MacConkey. Medios diferenciales: medios de cultivo que permiten diferenciar microorganismos porque ponen en evidencia características metabólicas. Ej: agar citrato, agar MacConkey.

DESARROLLO DEL PROCESO

- Insumos: Medios de cultivos sólidos y/o líquidos de acuerdo a proceso a realizar, pipetas pasteur, asa de micrón, gradilla de tubos, portaobjetos, guantes, mascarillas.
- Equipos: estufa de incubación de atmósfera normal y de CO₂, mechero, gabinete bioseguridad, vórtex, centrífuga
- Software: Omega

Consideraciones generales:

- Mantener durante todo el proceso las precauciones estándares
- Utilizar técnica aséptica
- Durante el proceso mantener ventanas cerradas
- Realizar con mechero encendido, 5 centímetros proporciona un área no contaminada
- Reunir todos los materiales necesarios para la siembra (placas, portaobjetos etc.)
- Mantener área de trabajo despejada y cómoda para realizar procesos (sólo con material necesario)
- Esterilizar las asas antes de usarlas y enfriarlas antes de tomar muestra.
- Entre cada placa siempre esterilizar el asa

- Marcar placas y porta objetos con el N° de petición de la muestra antes de la siembra.

Procedimiento:

1. Técnico paramédico de la sección de microbiología o urgencia (según el horario) es responsable de la recepción de la muestra, verificar el nombre en el frasco con la orden de examen, ingreso al sistema informático, e impresión de las etiquetas con códigos de barra correspondientes para cada muestra (según procedimiento de recepción y almacenamiento de muestras biológicas en el laboratorio Clínico, Manual de Toma de Muestras)
2. Prende el mechero, se coloca guantes de procedimiento y mascarilla.
3. Verifica nuevamente el nombre del paciente con la orden de trabajo. Revisa las placas y los tubos de medios de cultivo que corresponde utilizar según el tipo de muestra que se encuentra en área de siembra, frente a mechero.
4. Etiqueta con los códigos de barra las placas, tubo con caldo y portaobjeto (en caso necesario).
5. El procesamiento de la muestra para su siembra dependerá del tipo de muestra y de cómo haya sido tomada, a saber, en líquidos y secreciones en recipientes estériles y trozos de tejido. El principio general es siempre sembrar primero el (los) medio(s) de cultivo sólido, luego el medio de cultivo líquido y por último realizar frotis para tinción. Para determinar la secuencia en que deben ser sembrados los medios de cultivo, siempre se debe empezar por el medio menos selectivo, para seguir con el medianamente selectivo y al final el más selectivo.
6. A continuación se describe la técnica de siembra según el tipo de medio de cultivo y de muestra.

Siembra en placa

Se obtiene colonia aisladas por medio del arrastre y separación. Con el asa ya esterilizada, se toma una gota de líquido o de una emulsión del producto patológico y

se deposita en un costado del agar de una placa Petri, se estría a partir de ese. En caso de muestras que se reciben en tómulas, se realiza con ésta la primera de las estrías procediendo después a diseminar con el asa o pipeta.

- a. Esterilización simple: Utilizada principalmente para la mayoría de las muestras. Se inocula en el primer cuadrante. Se esteriliza el asa sólo una vez y luego se disemina el 2º y 3er cuadrante. Si tiene varias placas, inocule primero en el primer cuadrante todas las placas y luego disemine.
- b. Esterilización doble: Utilizada principalmente para muestras con mucho inóculo bacteriano, como deposición. La diferencia radica en agregar una segunda esterilización del asa entre el 2º y 3º cuadrante. Si tiene varias placas que sembrar, inocule primero en el primer cuadrante de cada una de las placas y luego disemine con asa.

Siembra en tubos de agar tendido

El borde del tubo debe ser flameado antes y después de ser sembrado. Con el asa previamente esterilizada a la llama, se toma una pequeña cantidad de la muestra y se lleva al fondo del tubo, luego se estría suavemente la superficie del medio en forma ondulante. Antes de introducir el tubo a la estufa de cultivo, debe dejarse suelto el tapón de goma para evitar que los gases expulsen el tapón. Ejemplo Agar Sabouraud, Agar Citrato

Siembra en superficie y picadura

El inóculo es introducido con el asa recta o pipeta pasteur hasta el fondo del medio con un solo movimiento y teniendo cuidado en hacer el mismo trayecto de entrada que de salida, se retira hacia la superficie inclinada del agar haciendo suavemente una estría ondulada. Debe flamearse el borde del tubo antes y después de la siembra. Antes de introducir el tubo a la estufa de cultivo debe soltarse el tapón de goma para evitar que los gases expulsen el tapón. Ejemplo Agar TSI, Agar LIA.

Siembra en profundidad

El inóculo se introduce como una picadura en el medio de cultivo cuidando que sea de manera recta y central hasta el fondo del tubo. Se debe hacer el mismo trayecto de entrada y salida. Ejemplo agar MIO.

Siembra de inóculo longitudinalmente y diseminación con estría única

Recuento de colonias por siembra de un inóculo conocido a lo largo de la placa y diseminado posteriormente. Usado principalmente para orina y otras muestras respiratorias como Lavado broncoalveolar (LBA). Un inóculo determinado se siembra con una línea que atraviesa longitudinalmente la placa (en el caso de orina $\frac{1}{4}$ o $\frac{1}{6}$ de la placa) y luego se disemina el inóculo primario con una estría única.

Siembra en medio líquido

Al inocular un medio líquido, el tubo se inclina y el material se extrae del asa por frotamiento contra la pared del tubo, cuando éste se endereza el material se encuentra bajo la superficie del medio. Al inocular el medio líquido con tórula o con inóculo líquido se deposita este en el fondo del tubo. Debe flamearse la boca del tubo antes y después de efectuada la siembra. Antes de introducir el tubo a la estufa de cultivo debe soltarse el tapón de goma para evitar que los gases expulsen el tapón. Ejemplos: thioglicolato, caldo soya

TINCION DE GRAM

- Hacer extendido, fijar a temperatura ambiente o calor suave
- Colorear con cristal violeta al 1% o violeta genciana durante 60 segundos, cuidando que el colorante cubra toda la preparación.
- Eliminar el exceso de colorante y lavar rápidamente con un chorro suave de agua, manteniendo la lámina en posición inclinada.
- Cubrir la preparación con la solución de lugol (mordiente), dejándola actuar durante 60 segundos. Lavar nuevamente con agua.

- Decolorar con alcohol - acetona (mezcla 1: 1) durante 10 segundos.
- Lavar con agua
- Colorear con el colorante de contraste que es la safranina durante 30 segundos.
- Lavar con agua, secar y observar al microscopio utilizando el objetivo de inmersión.
- Las bacterias que retienen el colorante se denominan GRAM POSITIVAS y se observan de color AZUL.
- Las bacterias que se decoloran con el alcohol – acetona y se tiñen con la safranina se denominan GRAM NEGATIVAS y se observan de color ROSADO.
- La fase de decoloración con alcohol- acetona constituye la etapa más importante de la tinción de Gram y en ella reside su carácter diferencial.

PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE MÉTODOS CONVENCIONALES Y RÁPIDOS DE IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS AEROBIAS

Se entiende por identificación bacteriana al conjunto de técnicas y procedimientos que se aplican para establecer la identidad de un microorganismo.

Métodos utilizados para la identificación microbiana:

1. Métodos basados en criterios morfológicos (estructurales)
2. Métodos basados en tinción diferencial
3. Métodos basados en pruebas bioquímicas
4. Métodos basados en pruebas serológicas

A continuación se detallan una serie de pruebas bioquímicas que se realizan en el laboratorio para la identificación bacteriana:

- **Catalasa:**

- Esta prueba se emplea para diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positiva) del género *Streptococcus* (catalasa negativa) y también en otros tipos bacterianos puede ser de utilidad (ej bacilos gram positivos)
- Prueba en portaobjeto: Transferir células bacterianas desde el centro de una colonia bien aislada a la superficie de un portaobjeto de vidrio con una pipeta Pasteur.
- Agregar una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 30 %.
- La rápida aparición y sostenida producción de burbujas de gas o efervescencia constituyen un resultado positivo.
- Precauciones: Si la colonia a estudiar está sembrada en un medio con sangre debe tenerse la precaución de no arrastrar medio, pues los glóbulos rojos allí contenidos darían una reacción positiva falsa. Los cultivos para esta prueba deben ser de 18 a 24 horas, ya que colonias más viejas pueden perder su actividad, dando una reacción negativa falsa.

- **Coagulasa:**

- Esta prueba permite diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) del resto de especies de *Staphylococcus* que son coagulasa negativas.
- Se puede realizar de dos maneras: técnica en portaobjeto (coagulasa ligada) y la técnica en tubo (coagulasa libre).
- Prueba en tubo: En un tubo agregar 0.5 ml de una mezcla de plasma citratado más caldo soya tripticasa en proporción 1:1, resuspender una colonia aislada hasta una turbidez visible, incubar a 37°C durante 3 horas.
- Una prueba positiva está dada por la formación de un coágulo que no puede ser resuspendido por agitación. En caso de ser negativo (el medio continúa líquido) incubar hasta las 24 horas, ya que algunas cepas requieren tiempo prolongado de incubación.

- Prueba en portaobjetos: Preparar una suspensión densa de una colonia aislada en una gota de agua destilada o solución salina estéril situada en un portaobjeto, añadir una gota de plasma citratado, mezclar suavemente con un asa y observar si aparecen grumos (prueba positiva).

- **DNAsa:**

- Esta prueba permite identificar algunas bacterias (gram positivas o gram negativas), que poseen esta enzima extracelular, como es el caso de *Staphylococcus aureus* el cual es Dnasa positiva.

- Se realiza en una placa de medio sólido en la cual se ha incorporado el DNA, con un indicador (azul de toluidina o verde de metilo).

- Para realizar esta prueba se debe inocular una colonia sospechosa en una estría de aproximadamente 2 centímetros en la placa de agar DNAsa (Esto permite probar en la placa varios cultivos), incubar a 37° C por 24 horas (depende del tipo bacteriano a estudiar).

- Una prueba positiva está dada por la aparición de un halo transparente alrededor de la zona inoculada.

- **Sensibilidad a Bacitracina**

- Esta prueba permite identificar presuntivamente a *Streptococcus* Beta hemolítico Grupo A

(*Streptococcus pyogenes*).

- Para esta prueba se utiliza un sensidisco de Bacitracina de 0.04 unidades.

- Se recomienda usar un inóculo puro abundante de la colonia sospechosa (beta hemolítica), a partir de un caldo soya tripticasa con unas 6 horas de incubación.

- Sembrar en césped sobre una placa de agar sangre de cordero y depositar el sensidisco.

- Incubar la placa a 37°C en una atmósfera de CO2 durante toda la noche.

- Cualquier tamaño de halo de inhibición indica prueba positiva, es decir, corresponde presuntivamente a *Streptococcus pyogenes*, ya que son sensibles a la Bacitracina.

- **Test de Camp**

- Este Test permite identificar a *Streptococcus* beta hemolítico del grupo B (*Streptococcus agalactiae*), también a *Listeria monocytogenes* y algunas especies de *Corynebacterium*.

- Para realizar este test se debe disponer de una cepa de *Staphylococcus aureus* productor de una betalisina.

- Se debe trazar una franja del *Streptococcus* en estudio en forma perpendicular a una franja del *Staphylococcus aureus* productor de betalisina, sin tocarla, es decir, se debe tener 1 cm de distancia entre ambas trazas. Todo esto sobre una placa de agar sangre de cordero.

- Incubar 18-24 horas a 37° C en atmósfera de 5-10% CO₂.

Los estreptococos del grupo B y otras bacterias que dan este test positivo producen una sustancia (Factor de CAMP) que agranda la zona de hemólisis producida por el estafilococo, para formar una típica cabeza o punta de flecha en la unión de ambos microorganismos (Test de CAMP positivo).

- **Sensibilidad a Optoquina**

- Esta prueba permite identificar a *Streptococcus pneumoniae* (diagnóstico presuntivo)

- Seleccionar 4 - 6 colonias sospechosas y sembrar en césped directamente en un sector de una placa de agar sangre o agar sangre Mueller Hinton.

- Colocar el disco de Optoquina (etilhidrocupreina 7mm), luego incubar en una atmósfera de CO₂ por 24 horas para estimular el desarrollo bacteriano.

Leer el halo de inhibición, si este mide 14 o más milímetros corresponde a *Streptococcus pneumoniae* (diagnóstico presuntivo)

- **Sensibilidad a Novobiocina**

- Esta prueba permite diferenciar a *Staphylococcus saprophyticus* de los demás *Staphylococcus* coagulasa negativos.
- La técnica consiste en hacer un inóculo de la colonia sospechosa a una turbidez de 0.5 Mac Farland, después se debe sembrar a modo césped en una placa de agar Mueller Hinton, posteriormente colocar el sensidisco de Novobiocina (5 ug) e incubar por 18 horas a 37° C.
- Si el halo del sensidisco es menor de 5mm la bacteria es resistente.
- Si el halo del sensidisco es mayor de 6mm la bacteria es sensible.
- *Staphylococcus saprophyticus* es resistente a la Novobiocina.

- **Test de bilis Esculina**

- Este test diferencia entre estreptococos grupo D y no grupo D. También tiene otras aplicaciones.
- Se debe disponer del medio bilis esculina tendido en tubos, el cual es de un color amarillento claro.
- El medio debe ser inoculado en forma de estrías o picadura con una o tres colonias sospechosas.
- Incubar a 37° C por 24 a 48 horas a atmósfera normal.
- Reacción positiva: el medio se pone color negro (estreptococos grupo D)
- Reacción negativa: no hay aparición de coloración negra.

- **Prueba de Voges-Proskauer**

- El Test Voges-Proskauer se usa en la diferenciación de bacterias de la familia Enterobacteriaceae y también para diferenciar bacterias del grupo *Streptococcus*.

- Preparar una suspensión bacteriana en 0.25ml de cloruro de sodio (0.9%) en un tubo de Khan - Agregar una tableta diagnóstica para VP y tapar el tubo con tapón de goma o algodón.

- Incubar a 35-37°C por 4 horas

- Leer la reacción agregando 2 gotas de solución de alpha-naphthol (5% en etanol) y después agregar una gota de Hidróxido de potasio (KOH) al 40% y mezclar.

- Incubar 5 minutos a temperatura ambiente.

- Reacción positiva: color rojo o rosado

- Reacción negativa: no hay cambio de color

- **Oxidasa:**

- Esta prueba se utiliza para la identificación de la enzima citocromoxidasa presente en algunas bacterias. La prueba se lleva a cabo por medio de dos métodos; uno de ellos es con un trozo de papel filtro o toalla de papel la cual se impregna con gotas del reactivo tetrametil-p-fenilendiamina, previamente preparado con agua destilada, una vez impregnado se debe inocular una colonia de la cepa en estudio en el papel.

- Otro método que se utiliza es con tiras reactivas comerciales en las cuales va impregnado el reactivo, las cuales deben ser inoculadas con la colonia a estudiar.

- Las colonias bacterianas que tienen actividad de citocromoxidasa (oxidasa positiva) desarrollan un color azul oscuro en el sitio de la inoculación en 10 segundos.

- Las colonias oxidasa negativa no producen color.

- **Prueba de O/F (oxidación y fermentación):**

- Se usa el medio básico de Hugh y Leifson con un pH de 7,1. Es un medio semisólido de color verde que se inocula por picadura. Contiene carbohidratos como: glucosa, lactosa, sacarosa o maltosa al 10%.

Como indicador de pH tiene Azul de Bromotimol.

- Se inoculan los dos tubos con la bacteria por picadura.

- Uno de los tubos queda sin aceite y otro con aceite o vaselina sellándolo. Se incuban a 37°C por 24 horas.

- Se lee la reacción:

Amarillo en superficie Verde (sin viraje)

Inactivo Verde (sin viraje) Verde (sin viraje)

- **Medio M.I.O. (Motilidad – Indol – Ornitina)**

El medio de Motilidad – Indol – Ornitina (M.I.O.) es un medio de cultivo ampliamente utilizado para la diferenciación de bacilos Gram negativos entéricos, sobre la base de la producción de Indol, la actividad de la enzima ornitina descarboxilasa y la capacidad de motilidad.

Las peptonas y el extracto de levadura aportan aminoácidos y nutrientes esenciales, la dextrosa constituye una fuente de energía. El agar actúa como agente gelificante.

Los cambios en el pH se verifican gracias al indicador púrpura de bromocresol. La actividad de la ornitina descarboxilasa se observa como un viraje hacia el color púrpura, en tanto que la ausencia de la enzima produce un viraje hacia color amarillo. La motilidad se observa como un desplazamiento del desarrollo microbiano desde el inóculo. Se deben observar estas características antes de efectuar la evaluación del indol.

La producción de indol se verifica mediante la adición de algunas gotas de reactivo de Kovacs en la superficie del medio de cultivo. La producción de un compuesto color rojo fucsia es considerado como Indol positivo.

- Inoculación: sembrar las muestras mediante una picadura vertical y profunda en centro del tubo. Incubar por 24 horas a 37°C.

- Lectura e interpretación de Resultados: una vez completado el periodo de incubación, observar motilidad y actividad de ornitina decarboxilasa, y luego realizar la prueba del Indol.

a. Motilidad:

- Resultado positivo: presencia de desarrollo microbiano que se observa como enturbiamiento del medio de cultivo en todo el tubo, o desplazado fuera de la picadura de inoculación.
- Resultado negativo: el desarrollo microbiano está restringido solo en el trayecto de la picadura de inoculación.

b. Ornitina descarboxilasa:

- Resultado positivo: se verifica como alcalinización del medio de cultivo con un viraje hacia el púrpura.
- Resultado negativo: se observa acidificación con viraje hacia amarillo o no se observan cambios significativos en el pH.

c. Producción de indol:

Agregar 3 a 4 gotas de Reactivo de Kovacs sobre la superficie del medio de cultivo y agite cuidadosamente.

- Resultado positivo: producción de un anillo de color rojo fucsia. Cualquier indicio de color es considerado positivo.
- Resultado negativo: producción de un anillo de color amarillo.

- **Citrato**

- El agar citrato de Simmons es un medio diferencial utilizado para el estudio de bacilos Gram negativos entéricos, sobre la base de la utilización del citrato como una fuente de carbono, y la utilización de sales de amonio inorgánico como única fuente de nitrógeno. Estas reacciones metabólicas son dependientes del aporte de oxígeno.
- El sulfato de magnesio aporta cofactor magnesio para diversas reacciones enzimáticas, en tanto que el fosfato de potasio actúa como agente tamponante. Los cambios en pH se verifican gracias al indicador azul de bromotimol.

- Inoculación: sembrar las muestras mediante estría en superficie. El aporte de oxígeno es fundamental para observar una buena reacción positiva, para mejorar los resultados se puede cambiar el tapón de goma por algodón cardé. Incubar por 24 horas a 37° C.

- Lectura e interpretación de Resultados:

Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo de colonias en la superficie del agar y el viraje de pH por alcalinización, de verde a azul.

- Resultado positivo: solamente los microorganismos que pueden utilizar el citrato como fuente de carbono presentarán desarrollo. El medio cambiará de verde a azul.

- Resultado negativo: no se observará desarrollo ni cambios en el color

- **Ureasa**

- El agar urea de Christensen es un medio de cultivo ampliamente utilizado para la identificación de bacilos Gram negativos entéricos sobre la base de la degradación de urea en amonio. Esta cualidad es propia de bacterias del género *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* y también puede verificarse en otras como *Klebsiella* spp. *Bordetella* spp. y *Brucella* spp.

- Los cambios en el pH se verifican gracias al contenido de rojo de fenol: la producción de ácido se ve como cambio del color de rojo anaranjado a amarillo, en tanto que la alcalinización se observa como viraje hacia el rojo fucsia. El valor del pH se eleva cuando existe degradación de la urea y producción de amonio.

- Inoculación: sembrar abundantemente las cepas mediante estría en la superficie tendida.

- Incubar por 24 horas a 37° C.

- Lectura e interpretación de Resultados:

Una vez completado el período de incubación, se debe observar el desarrollo microbiano en la superficie tendida y el viraje de pH por alcalinización a rojo fucsia.

-Resultado positivo: Degradación de la urea, desarrollo y viraje del indicador de pH a color rojo fucsia.

-Resultado negativo: medio de cultivo sin cambios, no hay viraje del indicador de pH.

- **Medio L.I.A.**

- El medio de agar Lisina y hierro (L.I.A.) es un medio de cultivo ampliamente utilizado para la diferenciación de bacilos Gram negativos entéricos, especialmente miembros del género *Salmonella* con capacidad de fermentación de lactosa, sobre la base de la producción de H₂S y la actividad de la enzima lisina descarboxilasa. También es posible observar cambios debidos a la actividad de la enzima lisina deaminasa, características del género *Proteus* y *Providencia*.

- Las peptonas y el extracto de levadura aportan aminoácidos y nutrientes esenciales, la dextrosa constituye una fuente de energía. El citrato de amonio férrico y el tiosulfato de sodio actúan como marcadores de la producción de H₂S, en este caso se observa el desarrollo de sulfuro de hierro negro en el tubo. El agar actúa como agente gelificante.

- Los cambios de pH se verifican gracias al contenido de púrpura de bromocresol: la producción de ácido se ve como cambio del color a amarillo con valores de pH inferiores a 5.2, en tanto que la alcalinización como cambio del indicador hacia el púrpura con valores de pH sobre 6.8.

La actividad de la lisina descarboxilasa se observa como un viraje hacia el color púrpura en todo el medio de cultivo, o bien como medio de cultivo sin cambio (neutro) en la columna de agar, en tanto que la ausencia de la enzima produce un viraje hacia el color amarillo en la columna y neutro en la zona inclinada. La actividad de la lisina deaminasa, se observa como color rojizo en la zona inclinada, con fondo amarillo en el tubo. También puede observarse producción de gas por efecto de fermentación de la glucosa.

- Inoculación: sembrar las muestras mediante estría en la superficie tendida y una picadura vertical y profunda en el centro del tubo.

- Lectura e interpretación de Resultados: Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo microbiano en la superficie tendida y en la columna del tubo. Considerar el viraje de pH por alcalinización (púrpura) o acidificación (amarillo). Además se debe observar la producción de H₂S como color negro en el tubo y la generación de gas.

a. Producción de H₂S:

- Resultado positivo: el desarrollo microbiano produce coloración negra en el medio de cultivo en todo el tubo.

- Resultado negativo: ausencia de coloración negra.

b. Lisina descarboxilasa:

- Resultado positivo: se verifica como alcalinización (K) del medio de cultivo con un viraje hacia el púrpura en todo el tubo, o como medio de cultivo neutro

- Resultado negativo: se observa acidificación (A) con viraje hacia el amarillo en la columna del tubo y alcalinización (color púrpura) en la zona inclinada.

c. Lisina deaminasa:

- Resultado positivo: producción de color rojo granate (R) en la superficie inclinada.

- Resultado negativo: ausencia de color rojo granate.

• **Medio T.S.I.**

- El agar T.S.I. es un medio de cultivo ampliamente utilizado para la diferenciación de bacilos Gram negativos entéricos en base a la fermentación de carbohidratos y la producción de H₂S.

- Las peptonas y el extracto de levadura aportan aminoácidos y nutrientes esenciales, la dextrosa, lactosa y sacarosa constituyen fuentes de energía y sustratos para la diferenciación basada en la actividad fermentativa sobre los azúcares. El sulfato

ferroso y el tiosulfato de sodio actúan como marcadores de la producción de H₂S, en este caso se observa el desarrollo de sulfuro de hierro negro en el tubo. El cloruro de sodio contribuye al equilibrio osmótico. El agar actúa como agente gelificante.

- Los cambios en el pH se verifican gracias al contenido de rojo fenol: la producción de ácido se ve como cambio del color de rojo anaranjado a amarillo, en tanto que la alcalinización se observa como viraje hacia el rojo. También puede observarse producción de gas por efecto de fermentación de la glucosa.

- Inoculación: sembrar las muestras mediante estría en la superficie tendida y una picadura vertical y profunda en el centro del tubo.

- Lectura e interpretación de Resultados: Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo microbiano en la superficie tendida y en la columna del tubo. Considerar el viraje de pH por alcalinización hacia el rojo (K) o acidificación (A) hacia el amarillo. Además se debe observar la producción de H₂S como color negro en el tubo y la generación de gas por efecto de la fermentación.

a. Producción de H₂S:

- Resultado positivo: el desarrollo microbiano produce coloración negra en el medio de cultivo en todo el tubo.

- Resultado negativo: ausencia de coloración negra.

b. Fermentación de carbohidratos:

- Resultado positivo: se observa acidificación (A) con viraje hacia el amarillo en la columna del tubo, incluyendo o no la superficie inclinada.

- Resultado negativo: se verifica como alcalinización (K) del medio de cultivo con un viraje hacia el rojo en todo el tubo o como medio de cultivo neutro.

c. Producción de gas:

- Resultado positivo: burbujas de gas o rotura de la columna de agar en el tubo por presión de gas acumulada en los tubos cerrados. - Resultado negativo: no se observa gas.

MANUAL DE BIOSEGURIDAD DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

INTRODUCCIÓN

Durante el trabajo diario de la sección de microbiología, se dan situaciones de potenciales riesgos que varían según el agente infeccioso y los procedimientos utilizados. Las Normas de Bioseguridad pretenden reducir a un nivel aceptable el riesgo inherente a la manipulación de material peligroso.

El trabajo en el laboratorio de microbiología es, como en la mayoría de las otras secciones del Laboratorio Clínico, un trabajo de grupo. La actitud ante las practicas seguras de cada uno de los integrantes del equipo, determinan su propia seguridad, así como la de sus compañeros y la de la colectividad del Laboratorio.

Por otra parte, el equipamiento y el diseño del Laboratorio de Microbiología es parte fundamental en el esfuerzo de protección de los empleados en el ejercicio de sus labores. También en éste contexto un grupo de profesionales ha elaborado un protocolo de normas básicas en la construcción de laboratorios biológicos.

Sin embargo, las características especiales del trabajo en la sección de Microbiología, hacen imperante un Manual que sirva de guía a los microbiólogos en su trabajo diario. La formación es pues clave en la eficacia de los programas de seguridad y ésta debe ser facilitada a todas las personas que están expuestas a los riesgos del laboratorio.

Un programa de seguridad gestionado por profesionales bien entrenados, con un alto grado de participación por parte de los trabajadores, puede llevar no sólo a una disminución del número de lesiones y enfermedades, sino también a un incremento de la satisfacción del trabajador y de su productividad.

El propósito de este Manual es describir la metodología a seguir en un programa de Bioseguridad en microbiología, tal que sea una guía para el trabajo seguro en el laboratorio que envuelve microorganismos potencialmente peligrosos.

NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

La peligrosidad de un agente está directamente relacionada con el tipo de microorganismo y la manipulación a la que es sometido. Por ello es básico:

1. Conocer los agentes, sustancias y productos peligrosos que existen en el laboratorio.
2. Conocer la metodología de trabajo del laboratorio.
3. Conocer el equipamiento del laboratorio.
4. Conocer las medidas a tomar en caso de emergencia.
5. Conocer las leyes relacionadas con la seguridad biológica.
6. Respetar y hacer cumplir todo lo anterior.

Para que se produzca un accidente por agente biológico deben concurrir básicamente cuatro elementos:

- Un huésped susceptible
- Un agente infeccioso
- Una concentración suficiente de éste
- Una ruta de transmisión apropiada.

De todos ellos, el que mejor se puede controlar en el laboratorio es la ruta de transmisión. Las rutas de transmisión más comunes en el laboratorio son la aérea y la inoculación directa, muy por encima de todas las demás, aunque la oral, la percutánea y el contacto directo con la piel o las mucosas también son posibles.

Siendo imposible determinar a ciencia cierta si cualquier material biológico está contaminado con microorganismos del grupo 2 ó 3, ciertas muestras (respiratorias, etc.) en las que sea posible que exista un microorganismo del grupo 3 deben manipularse rutinariamente en las Cabinas de Seguridad Biológica (CSB).

MEDIDAS GENERALES

Las siguientes medidas son de obligado cumplimiento en cualquier área del laboratorio:

- El acceso al laboratorio estará limitado al personal autorizado.
- No deben entrar en el mismo, familiares ni amigos.
- El personal del laboratorio debe implicarse en el cumplimiento de las normas de seguridad.
- Todas las áreas estarán debidamente marcadas con la señal de riesgo biológico y su nivel de contención.
- Las puertas y ventanas deben permanecer cerradas para mantener la adecuada contención biológica.
- Todas las superficies de trabajo se limpiarán y desinfectarán diariamente y siempre que se produzca un derrame. Los residuos y muestras peligrosas que van a ser incinerados fuera del laboratorio deben ser transportados en contenedores cerrados, resistentes e impermeables siguiendo las normas específicas para cada tipo de residuo.
- El laboratorio debe permanecer limpio y ordenado y no es aconsejable utilizar los pasillos como almacén. Siempre debe quedar un espacio libre no inferior a 120 cm para poder evacuar el laboratorio en caso de emergencia.
- El transporte de las muestras dentro o entre laboratorios se realizará de tal manera que, en caso de caída, no se produzcan salpicaduras. Lo recomendable es hacerlo en cajas herméticas o neveras transportables. Estas cajas o neveras deberán ser rígidas y resistentes a los golpes, contar con materiales absorbentes en su interior y de fácil desinfección. Se etiquetarán o

identificarán de forma oportuna y no podrán ser utilizadas para otros fines. Bajo ningún concepto se deben transportar las muestras a mano.

- La ropa protectora, fácilmente ajustable y confortable, así como guantes, gafas, etc. debe estar disponible en todo momento. La ropa protectora de las áreas con nivel de contención 3 (batas) nunca debe ser usada fuera del área de trabajo y si se quita debe de ser desechada automáticamente en una bolsa de material contaminado. Jamás debe volver a ser usada.
- Todo el personal debe poner especial cuidado en evitar el contacto de la piel con materiales potencialmente infecciosos. Con este fin deben usarse guantes cuando se manipulen muestras o cultivos que contengan posibles patógenos. Los guantes siempre serán desechados antes de salir del área de trabajo. Jamás se saldrá de la misma con los guantes puestos, ni con ellos se cogerá el teléfono, se tocarán las hojas de examen, maniguetas de las puertas, etc.
- Tras quitarse los guantes, se realizará un lavado de manos.
- Se usarán gafas protectoras y mascarillas faciales si existe riesgo de salpicaduras y/o aerosoles.
- Se pondrá extremo cuidado en minimizar el riesgo de autoinoculación y de generación de aerosoles.
- Los derrames y accidentes deben ser informados inmediatamente al Supervisor y al Jefe del Laboratorio y hacerse constar por escrito.
- Nadie podrá trabajar en el área de tuberculosis con una prueba de Tuberculina negativa.
- Está rigurosamente prohibido pipetear con la boca. Se realizará pipeteo automático con material adecuado y cada trabajador será instruido para manejarlo debidamente.
- En la zona de trabajo no debe colocarse material de escritorio ni libros ya que el papel contaminado es de muy difícil esterilización.
- No deberán usarse lentes de contacto.
- El personal con el cabello largo debe llevarlo recogido.

- Comer, beber, fumar y aplicarse cosméticos esta formalmente prohibido en el área de trabajo del laboratorio, así como el almacenamiento de comida o bebida.
- El personal debe lavarse las manos frecuentemente durante las actividades rutinarias, tras acabar la jornada laboral y siempre antes de abandonar el laboratorio (almorzar). Se usará un jabón antiséptico y el secado se realizará con papel.
- Las heridas y cortes en las manos, si se han producido en el Laboratorio, serán comunicados al responsable de la Sección correspondiente, así como al Supervisor de Bioseguridad que lo registrará haciendo constar todas las circunstancias. Las heridas y cortes deben ser convenientemente vendados y después es imprescindible ponerse guantes.

NORMAS DE SEGURIDAD EN LA UTILIZACIÓN DE EQUIPOS

NORMAS GENERALES

Los equipos y aparatos nunca deben colocarse en zonas de paso, en particular en los pasillos del laboratorio.

Todos los aparatos con toma eléctrica deberán cumplir las normativas de seguridad correspondientes. Nunca deben utilizarse en zonas mal aisladas y expuestas a la humedad.

Las fuentes de calor (calentadores, termobloques, etc.), sobre todo si se alcanzan temperaturas elevadas, deberán estar debidamente señalizadas para evitar quemaduras accidentales.

Todos los procedimientos de utilización de aparatos deberían contar obligatoriamente con apartados relativos a su utilización segura.

NEVERAS

Un adecuado mantenimiento, limpieza y desinfección sistemáticos de los aparatos reduce considerablemente los riesgos asociados a su utilización. Sin embargo, aun en estas condiciones, hay que tener en cuenta lo siguiente:

- No deben almacenarse cultivos de microorganismos patógenos por inhalación en recipientes que no estén convenientemente cerrados, especialmente si la cámara tiene un sistema de circulación de aire.
- No deben almacenarse reactivos que contengan compuestos volátiles inflamables (éter etílico, por ejemplo) en neveras que no posean un sistema de protección antideflagración. En los aparatos de tipo doméstico que se utilizan en el laboratorio debe anularse la lámpara de la luz.

CONGELADORES

La congelación es un proceso que mantiene la viabilidad de muchos agentes infecciosos, de ahí un potencial riesgo y las siguientes recomendaciones:

- Tratar de identificar en ficheros, listas, etc. el contenido de lo almacenado y sus riesgos potenciales.
- El material potencialmente infeccioso debe colocarse en tubos, recipientes, etc. bien cerrados. No se llenarán completamente, para evitar que rebosen por efecto del aumento de volumen tras la congelación.
- Descongelar periódicamente, limpiar y desinfectar si fuese procedente.
- Utilizar guantes para manipular el contenido. Si la temperatura es baja (por ejemplo -70°C o inferior), los guantes representan una protección adicional.

INCUBADORAS

La limpieza y la desinfección, periódicas y sistemáticas, son el método recomendable para reducir los riesgos derivados de la contaminación accidental del personal del laboratorio.

AUTOCLAVES

Los autoclaves deben poseer manómetro y termostato, así como válvula de seguridad, sistema de desconexión rápido y la purga del vapor ha de realizarse a un recipiente estanco y con agua, jamás directamente al exterior.

- No deben usarse si no se conocen perfectamente todos los mandos y su fundamento.
- Usar guantes especiales para protegerse del calor.
- No abrir jamás si el manómetro no está a "0" y la purga no ha sido abierta.
- Controlar una vez al mes su capacidad de desinfección mediante esporas, no siendo suficiente el método químico. El uso de registros de presión y temperatura de cada proceso y la instauración de un programa de mantenimiento también puede ser una alternativa válida al control mediante esporas. El agua debe ser cambiada regularmente.

CENTRÍFUGAS

Los mayores riesgos derivan, sobre todo, de la contaminación por los aerosoles generados durante la centrifugación de materiales biológicos y, en menor medida, de los traumatismos accidentales. Se recomienda:

- Cuando se centrifugue material biológico potencialmente infeccioso deben utilizarse tubos cerrados; la centrífuga debe disponer de rotores o cestillos de seguridad que protejan al operador de los posibles aerosoles.
- La rotura accidental de un tubo y su vertido en la cubeta representa una incidencia importante que debe ser comunicada inmediatamente al Supervisor o responsable, de forma que se proceda a la desinfección segura del aparato
- No se deben utilizar centrífugas antiguas que no posean sistema de cierre de seguridad, del que disponen todos los aparatos actuales, ni manipular éstas de forma que permitan su apertura mientras están en funcionamiento.

- Si el laboratorio dispone de ultracentrífugas, el equilibrado cuidadoso del rotor es fundamental.

PLAN DE EMERGENCIAS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Los riesgos en el Laboratorio de Microbiología se dividen en riesgos no biológicos, comunes a otros laboratorios, y riesgos biológicos o específicos. Los no biológicos pueden ser químicos, físicos, eléctricos o fuego.

Entre los riesgos biológicos no se hace referencia a las infecciones adquiridas en el laboratorio, ya que la mayoría son un proceso que pasa inadvertido. La exposición se centrará en la actuación cuando se produce un accidente.

Lo más importante ante un accidente en el laboratorio es tenerlo previsto, simular uno como mínimo una vez al año, discutir las medidas a tomar y sacar las conclusiones pertinentes; en definitiva no dejar nada a la improvisación y disponer del material necesario para actuar. Es recomendable contar con Estaciones de Seguridad, del mismo modo que existen los extintores.

El Supervisor de Seguridad llevará un registro de accidentes, donde se anotarán todos los detalles del percance, así como las medidas practicadas, las personas involucradas en el accidente y los procedimientos de actuación.

Los accidentes biológicos se producen generalmente por:

1. *Inoculación accidental.*
2. *Heridas causadas por animales de laboratorio.*
3. *Ingesta accidental.*
4. *Derrames y salpicaduras:*
 - Derrames en la recepción de muestras.

- Salpicaduras en cara y ojos.
 - Salpicaduras y contacto directo.
 - Salpicaduras en la superficie de trabajo.
 - Salpicaduras fuera de la zona de trabajo.
5. *Aerosoles.*
 6. *Por el aire.*
 7. *Deliberados y de origen desconocido.*

En el laboratorio de microbiología los accidentes potencialmente más frecuentes son las heridas causadas por objetos punzantes o cortantes (pinchazo y herida sangrante). En este caso se deberán aplicar las medidas bien detalladas en los Protocolos de actuación después de una exposición accidental a productos biológicos probablemente contaminados descritos en el Manual de Salud Ocupacional.

Las centrífugas actuales tienen mecanismos básicos de seguridad, pero no es infrecuente encontrar todavía algunas que, debido a lo antiguo de su diseño, permiten ser abiertas antes de su parada completa, hecho inaceptable con las normativas actuales. Así pues se pueden producir accidentes al frenarlas manualmente, con el consiguiente riesgo de lesión por la enorme fuerza centrífuga de las mismas.

El manejo y transporte de las bombonas de gases debe ser realizado por personal especializado. Estarán bien ancladas para evitar que se caigan.

En general, no debe utilizarse la luz UV porque no es esterilizante, sino sólo descontaminante y produce una falsa sensación de seguridad. En la CSB no se puede trabajar con ella encendida ya que puede dar lugar a una quemadura corneal tremendamente dolorosa. Si ello ocurre, se consultará con el Servicio de Oftalmología.

Las quemaduras por vapor procedente de autoclaves, así como las producidas por salpicaduras de los microondas, se tratarán tópicamente.

DERRAMES Y SALPICADURAS

Es uno de los apartados más importantes por su frecuencia y porque las medidas a tomar son responsabilidad exclusiva del Laboratorio de Microbiología y bajo ningún concepto del personal de limpieza. El procedimiento empleado, bien protocolizado, debe estar contemplado en el Manual de Seguridad. Los derrames y salpicaduras pueden ser de muchos tipos: por pérdida de los diferentes envases, generalmente porque estén mal cerrados (ya que se supone que son los adecuados), por rotura de los mismos, vuelco, etc. y son muy frecuentes en la zona de recepción de muestras. Para actuar correctamente son muy recomendables las Estaciones de Seguridad.

Lavado. Primero se eliminan los restos groseros de cristal, plástico, agar, etc., después se lava con abundante agua y un detergente acuoso y a continuación se inicia la desinfección. Hay que tener en cuenta que cualquier sustancia orgánica (agar sangre, restos de peptona, etc.) es extraordinariamente bloqueante de la capacidad oxidativa del hipoclorito sódico y de la capacidad de actuación de los iodóforos; por ello, la norma es primero limpiar y después desinfectar.

Desinfección. Se empleará un desinfectante preferentemente líquido. Los más útiles en el laboratorio son:

1. **Hipoclorito sódico.** De elección para suelos, cerámica, etc. No debe usarse en superficies metálicas. Se utiliza a la dilución pertinente para conseguir 50000 p.p.m. de cloro libre. Se vierte haciendo un círculo alrededor del derrame, o mejor sobre papel absorbente, y se deja actuar 20 minutos.
2. **Iodóforo.** Se utiliza a la dilución indicada por el fabricante. Adecuado en superficies metálicas.
3. **Alcohol etílico** al 70%.
4. **Productos detergentes desinfectantes.** Agentes como Virkon (peróxido tamponado con surfactante), de fácil manejo, no corrosivo, no irritante, especialmente activo en presencia de materia orgánica y que cambia de color cuando deja de ser activo.

TUBOS ROTOS DENTRO DE LA CENTRÍFUGA

Se exigirá siempre la presencia del Supervisor de Seguridad. En ocasiones se puede detectar el accidente antes de abrir la centrífuga, si se ha estado presente durante el proceso de centrifugación, por el cambio de ruido en el funcionamiento de la máquina. Como esto no siempre sucede, deberá existir un entrenamiento para cuando se observe el accidente al abrir la centrífuga: cerrar la centrífuga y hacer salir inmediatamente a todo el personal prescindible del área. Vestirse como en el caso de las salpicaduras (el aerosol puede ser importante), cerrar la habitación y:

1. Desinfectar la centrífuga por fuera.
2. Esperar 20 m.
3. Abrir la centrífuga muy suavemente.
4. Colocar todas las muestras no rotas en una gradilla o recipiente hermético (bolsa de autoclave) y llevarlas a una CSB para manipularlas allí.
5. Limpiar, sacar los restos con guantes adecuados y meterlos en bolsas de autoclave o de tipo III. Llevar las cubetas o cestillos con Virkon y el rotor, si es posible, al autoclave.
6. Desinfectar la centrífuga por dentro con iodóforo o Virkon y dejar actuar 20 m.
7. Limpiar la cuba con alcohol etílico al 70%.

AEROSOLES

Los aerosoles son la causa más frecuente e importante de accidente biológico y su origen es muy variado. Muchas veces pasan inadvertidos, por lo que siempre hay que dar por hecho que existen cuando se producen derrames o salpicaduras.

La mala práctica es la fuente más común de los aerosoles: enfriar asas calientes hundiéndolas en el agar, utilizar centrífugas no herméticas, centrifugar con tubos

abiertos o mal cerrados, agitar cultivos con el asa dentro del tubo, pipetear con demasiada fuerza, oler las placas, etc.

Las medidas a tomar para evitar los aerosoles son cambiar los hábitos. Deben anotarse todos los incidentes y decidir con el Supervisor de Seguridad si se toman medidas de profilaxis sobre la supuesta contaminación. En accidentes en los que se presume la formación de aerosol, proceder siempre con protección del aparato respiratorio.

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS PELIGROSOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

GENERALIDADES

La gestión de residuos debe ser considerada como una parte muy importante de la seguridad en el Laboratorio de Microbiología. Muchos de los desechos que se generan pueden estar contaminados por microorganismos o contener sustancias químicas tóxicas y peligrosas. En menor medida, el personal del laboratorio puede estar expuesto a los efectos de las radiaciones ionizantes.

Los casos de infecciones o intoxicaciones en el laboratorio son conocidos desde antiguo, lo que hace obligada la adopción de medidas de protección para la persona que trabaja en este ámbito. La protección debe ampliarse con prácticas tendentes a preservar la salud de los compañeros de trabajo. Además, aunque la visión que aquí se pretende dar está sobre todo encaminada a la protección del personal de los laboratorios, no debemos olvidar que las actividades que en ellos se realizan pueden afectar a la salud comunitaria.

La mejor manera de racionalizar los residuos es mediante una gestión integrada cuyos pilares básicos son la minimización, la segregación y la eliminación controlada (disposición). El personal del laboratorio debe ser consciente de que la puesta en marcha de normas de buena práctica en la gestión de los residuos repercute poderosamente sobre su salud y la de los que lo rodean, a la vez que contribuye a la reducción de costes.

De una forma conceptual, podemos considerar que un residuo infeccioso es todo aquel material capaz de producir una enfermedad infecciosa. Sin embargo, a diferencia de los residuos químicos y radiactivos, los desechos infecciosos y sus riesgos asociados no pueden ser identificados de una forma objetiva. La posibilidad de contraer infecciones en el laboratorio a través de los cultivos microbiológicos desechados o tras una punción o herida accidental es algo bien conocido. No ocurre lo

mismo a la hora de evaluar el riesgo que las actividades del laboratorio puedan tener sobre la salud de la comunidad. Por ejemplo, no existen evidencias epidemiológicas que asocien las infecciones en la comunidad con los residuos hospitalarios, de la misma manera que no se ha demostrado que los desechos de los hospitales tengan más capacidad infecciosa que los residuos urbanos generales.

Es necesario tener en cuenta aspectos epidemiológicos como la vía de transmisión, la puerta de entrada, la virulencia del patógeno y la susceptibilidad del huésped, entre otros. A pesar de todo, la mayor extensión y gravedad de hipotéticos brotes, la alarma social que crearía y razones de tipo estético obligan a un tratamiento particularizado de los residuos infecciosos antes de ser eliminados como residuos urbanos.

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS INFECCIOSOS

Todo Laboratorio de Microbiología debería elaborar un manual o protocolo para la gestión de estos residuos, siguiendo las directrices generales contenidas en el Plan de Residuos de cada institución. Esta recomendación puede ser norma obligada en el caso de que el laboratorio pretenda certificarse o acreditarse. Entre los diferentes aspectos que debe contener dicho manual se pueden citar los siguientes:

- Estrategias de minimización de los residuos, incluyendo la reducción en origen.
- Segregación de los residuos infecciosos de los no infecciosos.
- Identificación y tipificación de los residuos infecciosos y su riesgo relativo.
- Normas de señalización, rotulación, almacenamiento y transporte.
- Plan de formación de todas las personas expuestas a estos residuos.
- Normas de actuación en caso de vertidos o roturas accidentales.
- Plan de contingencia ante el fallo de las medidas de contención habituales.

MANIPULACIÓN DE LOS RESIDUOS INFECCIOSOS

a) Residuos líquidos

La sangre, líquidos orgánicos, secreciones, etc. pueden eliminarse directamente por el desagüe con agua abundante, según aceptan diversas reglamentaciones específicas y los manuales generales. Por lo que se refiere a los líquidos infecciosos que genera el propio laboratorio, como los sobrenadantes de los cultivos, etc., es aconsejable recogerlos en un recipiente que contenga una solución de hipoclorito sódico recién preparada. Debe calcularse el volumen máximo aceptable para asegurar la eficacia del desinfectante. Luego podrían ser eliminados por los desagües. No obstante, muchos laboratorios someten a los residuos líquidos, sangre incluida, a un tratamiento en el autoclave, lo que es de mayor importancia si se trata de residuos procedentes de las áreas de micobacteriología o virología.

b) Residuos sólidos

Las formas más frecuentes de tratamiento de los residuos sólidos son la incineración y la esterilización por autoclave. Por lo que respecta a la incineración realizada en los propios hospitales, es una actividad cada vez más restringida, debido a la contaminación que origina en las zonas urbanas donde están implantados. Más frecuente es transferir los residuos a empresas autorizadas, lo que debe hacerse en recipientes rígidos que deberán ser transportados de forma regulada.

La esterilización en autoclave es la manera más común de tratar este tipo de residuos en el propio laboratorio que los genera. Hay que asegurarse que el ciclo del autoclave permite la esterilización en toda la masa de los residuos. Los programas para materiales limpios no sirven para los desechos, siendo aconsejable prolongar el tiempo y aumentar la presión del proceso de autoclavado. La utilización de indicadores químicos no es suficiente para el control de la eficacia, que dependerá del tipo de material, volumen, etc. Las suspensiones de esporas de *Bacillus* tampoco pueden asegurar en todas las circunstancias que el tratamiento térmico es suficiente

en las zonas más internas de la masa de material a esterilizar, pues muchas veces no pueden ser colocadas en el lugar que sería apropiado. Algunos expertos recomiendan no utilizarlas, para evitar una falsa seguridad; alternatively, consideran más apropiado el control riguroso sistemático en cada proceso (por ejemplo, registros de presión y temperatura) y el mantenimiento apropiado del autoclave.

Para una explicación más detallada sobre las medidas de seguridad en el descarte de material contaminado, recomendamos las Normas sobre el tema del Manual de Bioseguridad del laboratorio clínico.

ALMACENAMIENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

ALMACENAMIENTO

El material infeccioso debería almacenarse en zonas de acceso restringido para minimizar la posibilidad de contaminación del personal o el ambiente.

El almacenamiento de material en congeladores, especialmente en los de nitrógeno líquido, presenta una problemática especial. Debido a las bajas temperaturas, si los viales que se utilizan para el envasado no son de la calidad adecuada, pueden romperse, originando el derrame del material en el nitrógeno líquido, con la consiguiente contaminación del recipiente. En el caso de que esto ocurra debe vaciarse el recipiente, dejar que el nitrógeno líquido se evapore y proceder a su limpieza y desinfección. Asimismo, cuando se maneja el material almacenado en este tipo de contenedores de congelación, siempre se deberán utilizar gafas o mascarillas de protección para evitar salpicaduras del nitrógeno líquido.