



**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE CIENCIAS TECNOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE LA SALUD
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLINICO**

TESIS DE GRADO

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE LICENCIADO EN
LABORATORIO CLINICO**

TEMA

***INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN
CAVIDADES CERRADAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN
EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL
GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO DESDE
ENERO A DICIEMBRE DEL 2006.***

AUTORES

**LADY PINARGOTE CEVALLOS
FREDDY ORTEGA PALACIOS
OSCAR RIVERA PALMA**

DIRECTOR DE TESIS

LCDO. PABLO BARREIRO

2006 – 2007

TEMA:

***INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN
CAVIDADES CERRADAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN
EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL
GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO DESDE
ENERO A DICIEMBRE DEL 2006.***

UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE CIENCIAS TECNOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE LA SALUD
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLINICO

TEMA:

***INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN
CAVIDADES CERRADAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN
EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL
GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO DESDE
ENERO A DICIEMBRE DEL 2006.***

Sometida a consideración de los honorables miembros que conforman el tribunal calificador de tesis de la Facultad de Ciencias Tecnológicas en el Área de la Salud, previo a la obtención del título de Licenciados en Laboratorio Clínico, por parte de los autores: Lady Pinargote Cevallos, Freddy Ortega Palacios y Oscar Rivera Palma.

MIEMBROS DEL TRIBUNAL	FIRMA	NOTA
DR. HERNÁN RODRIGUEZ	_____	_____
LCDA. JOSEFA GALARZA	_____	_____

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE CIENCIAS TECNOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE LA SALUD
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLINICO**

Manta, 5 de Octubre del 2007

Dr. Hernán Rodríguez Barcia
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS TECNOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE LA SALUD

Para fines académicos legales pertinentes damos conocimiento que los autores: Lady Pinargote Cevallos, Freddy Ortega Palacios y Oscar Rivera Palma; han concluido con éxito el trabajo de investigación previo a la investidura de Licenciados en Laboratorio Clínico, cumpliendo con los requisitos legales establecidos en el reglamento de Graduación y Titulación de la Unidad Académica y estatutos de la Universidad.

Por lo tanto, el trabajo en mención está apto para ser sometido a la calificación del honorable tribunal pertinente.

CALIFICACION:

DR. HERNÁN RODRIGUEZ

LCDA. JOSEFA GALARZA

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE CIENCIAS TECNOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE LA SALUD
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLINICO**

CERTIFICACION

Certifico que los estudiantes Lady Pinargote Cevallos, Freddy Ortega Palacios y Oscar Rivera Palma han concluido a cabalidad con la tesis de grado previo a la obtención del título de Licenciados en Laboratorio Clínico, cumpliendo con los requisitos establecidos en el reglamento de graduación y titulación de la unidad académica y estatutos de la Universidad. Por lo tanto el presente trabajo está apto para ser aprobado y calificado por el tribunal que bien amerite.

Lcdo. Pablo Barreiro

Director de Tesis

DECLARATORIA

“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis corresponden exclusivamente a los autores; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí”

Oscar Rivera Palma

Lady Pinargote Cevallos

Freddy Ortega Palacios

AGRADECIMIENTO

Lady Pinargote Cevallos, Oscar Rivera Palma y Freddy Ortega Palacios damos gracias a cada una de las personas que hicieron posibles este trabajo de investigación.

Agradecemos a nuestros padres, por darnos ese apoyo incondicional todos los días de nuestras vidas, además de la educación y valores inculcados en el hogar.

A los directivos del Hospital General de las Fuerzas Armadas de la ciudad de Quito por abrirnos las puertas de la institución para realizar nuestro internado rotativo en esta institución. Al Director del Laboratorio de Microbiología, Dr. Julio Ayabaca, además a las licenciadas encargadas de las diferentes áreas del laboratorio, gracias por su ayuda y por compartir sus conocimientos y experiencias día a día en el área de microbiología.

A la Facultad de Ciencias Tecnológicas en el área de la Salud, a su decano Dr. Hernán Rodríguez, a los diferentes docentes que nos ayudaron a elegir el tema y la elaboración de este trabajo, a el Lcdo. Pablo Barreiro por su guía permanente, apoyo incondicional y ser parte importante para la finalización de este trabajo y a la Lcda. Josefa Galarza por sus consejos y conocimientos que llevaron a culminar la presente tesis.

A todas las personas que de una u otra manera intervinieron desde el momento de la concepción de tema, hasta la finalización del mismo, a todos ¡Muchas Gracias!

DEDICATORIA

“Este trabajo se lo dedico a Martha, Geanine y Lady, por su apoyo constante e incondicional en mi vida y mis estudios. Por los consejos en el hogar y la amistad en todo momento”.

Oscar Rivera Palma

DEDICATORIA

“Dedico este trabajo a mi familia, a mis padres por que siempre me han apoyado en todos los momentos de mi vida y a mis hermanos por el respaldo brindado día a día”.

Lady Pinargote Cevallos

DEDICATORIA

“De todo corazón dedico este trabajo a mi familia, en especial a mi mamá y a mis hermanos, por su ayuda desinteresada en mis estudios y en mi vida”.

Freddy Ortega Palacios

ÍNDICE

I. INTRODUCCION	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
III. JUSTIFICACION	5
IV. OBJETIVOS	8
V. MARCO TEORICO CONCEPTUAL	9
VI. ESQUEMA DEL MARCO TEORICO CONCEPTUAL	10

CAPITULO I

1. CAVIDADES CERRADAS DEL CUERPO HUMANO

1.1. Introducción	14
1.2. Componentes del Cuerpo Humano	15
1.3. Cavidades del Cuerpo Humano	15
1.4. Clasificación	16

CAPITULO II

2. CAVIDAD CEREBRAL

2.1. Líquido Cefalorraquídeo (LCR)	17
2.1.1. Anatomía y fisiología del LCR	17
2.1.2. Funciones	17
2.1.3. Composición	18
2.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en LCR	20
2.1.5. Patología y epidemiología de infecciones meníngeas	21
2.1.6. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras	23
2.1.7. Detección al microscopio de agentes etiológicos	25
2.1.8. Cultivo de agentes etiológicos	26

CAPITULO III

3. CAVIDAD TORACICA

3.1. Líquido Pericárdico	28
3.1.1. Anatomía y fisiología del líquido pericárdico	28

3.1.2. Patología y Patogenia	28
3.1.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pericárdico	29
3.1.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras	30
3.2. Líquido Pleural	30
3.2.1. Anatomía y fisiología del líquido pleural	30
3.2.2. Fisiopatología	31
3.2.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pleural	31
3.2.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras	32

CAPITULO IV

4. CAVIDAD ABDOMINAL

4.1. Líquido Peritoneal	34
4.1.1. Anatomía y fisiología del líquido peritoneal	34
4.1.2. Patología y Patogenia	34
4.1.3. Líquido Ascítico	35
4.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en líquido peritoneal	35
4.1.5. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras	37

CAPITULO V

5. CAVIDAD ARTICULAR

5.1. Líquido Sinovial	38
5.1.1. Anatomía y fisiología del líquido sinovial	38
5.1.2. Microorganismos que se pueden aislar en líquido sinovial	38
5.1.3. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras	41

CAPITULO VI

METODOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO PARA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN CAVIDADES CERRADAS

6.1. Identificación Staphylococcus	42
6.1.1.2. Identificación de Staphylococcus Aureus	44
6.1.1.3. Identificación de Staphylococcus Coagulasa-Negativos	45

6.1.2. Identificación de Streptococcus	46
6.2. Identificación de Bacilos gramnegativos fermentadores (Enterobacteriaceae)	53
6.3. Identificación de Bacilos gramnegativos no fermentadores	61
6.4. Identificación de bacterias anaerobias	64
6.5. Identificación de hongos	66
VI. CONSTRUCCION DE HIPOTESIS Y VARIABLES	71
VII. CONCEPTUALIZACION DE VARIABLES	72
VIII. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES E HIPOTESIS	74
IX. METODOLOGIA DE INVESTIGACION	76
X. INTERPRETACION GRAFICA Y BIOESTADISTICA DEL TRABAJO DE CAMPO	80
XI. ANALISIS GENERAL DE TRABAJO DE CAMPO	96
XII. COMPROBACION DE HIPOTESIS Y VARIABLES	99
XIII. COMPROBACION DE OBJETIVOS	101
XIV. INFORME OBJETIVO CON IMPACTO SOCIAL	103
XV. CONCLUSIONES	105
XVI. SUGERENCIAS	109
XVII. PROPUESTA DE MEJORAMIENTO Y PREVENCION DE INFECCIONES EN CAVIDADES CERRADAS ENCONTRADAS EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO HG-1	113
XVIII. BIBLIOGRAFIA	116
XIX. ANEXOS	117
XX. CUADROS	140

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, como consecuencia de los progresos en la ciencia médica, ciertos grupos de pacientes resultan más susceptibles a las infecciones graves por diversas razones como el uso, cada vez mayor, de antimicrobianos y corticoesteroides, el número creciente de individuos con enfermedades crónicas consuntivas, el uso de agentes inmunosupresores y antimetabólicos y también la práctica, ya común, de una cirugía con mayores riesgos. Debido a estos factores se produce en el ser humano un estado de vulnerabilidad y propensión a adquirir enfermedades infecciosas *oportunistas*. Una infección se denomina *oportunistas* cuando un agente microbiano, que comúnmente no causa enfermedad, provoca inflamación en un huésped inmunocomprometido o debilitado.

En una definición amplia, toda infección implica la presencia de microorganismos en un huésped vivo. En la práctica, se considera que está presente una infección cuando microorganismos invasores despiertan una respuesta observable del huésped.

Los microorganismos, debido a que se encuentran ampliamente difundidos en todos los ambientes, pueden invadir cualquier parte del organismo, incluso aquellos sitios anatómicos más internos donde se encuentran órganos vitales de los cuales depende la regulación y mantenimiento de las funciones normales del cuerpo humano.

Este trabajo de investigación está enfocado a la identificación de infecciones producidas por microorganismos oportunistas que, ya sea por inmunosupresión viral o inducida por medicamentos, traumatismos quirúrgicos, infecciones no tratadas e infecciones adquiridas durante hacinamientos hospitalarios, ingresan de manera fortuita a las cavidades cerradas del organismo causando patologías como endocarditis, pericarditis, meningitis, peritonitis y artritis séptica. Entre los métodos de

identificación, se exponen las pruebas tradicionales utilizadas rutinariamente en la mayoría de los laboratorios de microbiología, hasta aquellos sistemas comerciales de identificación, con alta sensibilidad y especificidad que se han introducido en el mercado actualmente.

Para nuestra investigación la metodología aplicada es el estudio cuasi-experimental, retrospectivo y prospectivo; estableciendo un tiempo comprendido de Enero a Diciembre del 2006, destacando minuciosamente la problemática, obteniendo la información y el desarrollo del trabajo de campo, daremos a conocer la realidad del problema en estudio.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En países en vías de desarrollo y poca base tecnológica en salud, es común encontrar patologías a veces muy complejas, de difícil diagnóstico, de curso rápido y fulminante que pueden causar un elevado índice de morbi-mortalidad en pacientes hospitalizados así como pacientes ambulatorios.

Este es el caso de infecciones producidas en cavidades cerradas del cuerpo humano, las mismas que cada día aumentan y afectan la salud de más personas. Ya sea por traumatismos o accidentes, epidemias en lugares de hacinamiento o reclusión, infecciones crónicas nunca tratadas, infecciones nosocomiales e inmunosupresión por medicamentos o virus, son factores que pueden favorecer al contagio e invasión de microorganismos patógenos al interior de cavidades cerradas. En estos sitios anatómicos se encuentran líquidos orgánicos estériles, razón por la cual el ingreso de cualquier patógeno es significativo y amenaza a la salud, muchas veces sin darnos cuenta. Así como lo demuestra la investigación, de los diversos líquidos orgánicos en estudio, la mayoría de cultivos que dieron crecimiento bacteriano y micológico fueron aquellos provenientes de la cavidad abdominal, con un 67% de incidencia, demostrando así la fácil invasión de microorganismos oportunistas.

Por lo tanto, es de importancia el estudio microbiológico de los líquidos de cavidades cerradas, a pesar de que en nuestro país muchas instituciones de salud no cuentan con la infraestructura, equipamiento, recursos y el personal capacitado para desarrollar procedimientos complejos de obtención de muestras e identificación microbiológica, razón por la que se basan en el análisis de muestras rutinarias, dejando al margen el estudio de éstas muestras consideradas especiales. La situación también es acompañada de la poca demanda médica, por el desconocimiento de la importancia de éste estudio y la falta de experiencia que conjuntamente

llevan a un diagnóstico impreciso o poco concreto de enfermedades infecciosas y nosocomiales.

Por lo general éstas muestras se procesan en laboratorios de instituciones públicas o privadas con suficientes recursos económicos y tecnológicos, ligados a organizaciones internacionales o mundiales con fines de investigación científica, ubicados en las principales ciudades del país, por lo que en provincias de pocos recursos muchas veces no se le da importancia a este estudio. Esto es reflejado en el trabajo de campo, el cual nos indica que se estudiaron 575 muestras de las cuales 176 provenían de consulta externa, ya sea de otras instituciones o pacientes ambulatorios, en cambio, 399 muestras fueron obtenidas de pacientes hospitalizados, estadísticas que destacan la afluencia masiva de este tipo de muestras a la institución donde se realizó el estudio.

El presente estudio tiene el propósito de determinar la incidencia de microorganismos patógenos que pueden invadir cavidades cerradas, mediante técnicas microbiológicas y serológicas utilizadas en el laboratorio de microbiología de la institución escogida para la investigación.

El personal de laboratorio debe conocer, utilizar y manejar los instrumentos de información posibles para saber cuales son las características de las muestra que pueden ser encontradas durante su procesamiento y de esta manera orientarnos en el análisis e identificación correcta del agente infeccioso y dar un resultado inequívoco que ayude al diagnóstico oportuno de la afección que perjudica al paciente.

III. JUSTIFICACIÓN

Los seres humanos y los animales poseen una flora normal abundante que no suele producir enfermedad, pero que establece un equilibrio que garantiza la supervivencia, crecimiento y propagación tanto de la bacteria como del huésped. La piel y las mucosas albergan siempre algunos microorganismos que pueden clasificarse como *flora residente*.

Existen partes del cuerpo que son estrictamente estériles, es decir que no poseen *flora bacteriana* alguna, tal es el caso de diferentes cavidades cerradas y sus líquidos orgánicos, por ejemplo: cavidad craneal (líquido cefalorraquídeo), cavidad torácica (líquido pleural y pericárdico), cavidad abdominal (líquido peritoneal, biliar, pancreático, hepático, etc.) y cavidad articular (líquido sinovial) que en algunos casos son invadidos por microorganismos causando patologías como meningitis, neumonías, tuberculosis, pericarditis, peritonitis y artritis séptica, enfermedades que pueden afectar posteriormente la vida del paciente.

Según la Organización Mundial de Salud (OMS) las infecciones de la cavidad abdominal, son una causa importante de morbi - mortalidad en los enfermos de la unidad de cuidados intensivos, oscilando esta última entre un 20% - 40 % a pesar de los múltiples adelantos en cuanto a terapia antimicrobiana y de los cuidados brindados en UCI. Los microorganismos causantes en su mayoría son grampositivos en 63.7%, gramnegativos en 31.7% y levaduras en 4.1%. Existe también un 1.8% de casos en los que la infección es de origen polimicrobiano. Los grampositivos continúan siendo la principal causa de infección. En contraste, la incidencia de infección por gramnegativos se mantiene constante. Aún cuando las infecciones asociadas a microorganismos gramnegativos tienen un curso clínico peor, la morbilidad y mortalidad asociadas a grampositivos no es insignificante. Es más probable que la peritonitis secundaria a infección por grampositivos se asocie a episodios

de repetición (32%), comparada con la infección por gramnegativos (9%). La mortalidad puede oscilar desde un 1% en casos de perforación apendicular hasta un 20% en la de colon o en las infecciones derivadas de un trauma abdominal penetrante.

Según las estadísticas en Latinoamérica el *S. aureus* es el patógeno aislado con mayor frecuencia tanto en las infecciones de la comunidad como en las adquiridas en el hospital. En los pacientes hospitalizados éste agente es el responsable del 13% de las neumonías y del 20% de las infecciones del sitio quirúrgico. También es una causa importante de bacteriemia, endocarditis, pericarditis, peritonitis, infecciones de piel y tejidos blandos y artritis séptica (60%).

Los agentes más comunes que infectan las cavidades articulares son los cocos grampositivos. *S. aureus* es el microorganismo más frecuente de forma general (60%). En infecciones de prótesis articulares predomina *S. epidermidis*. *S. betahemolítico* es el responsable del 15% de las artritis infecciosas no gonocócicas y *S. pneumoniae* (neumococo) en un 3% (a partir de meningitis o neumonías). Las bacterias gramnegativas representan el 18% de las infecciones bacterianas no gonocócicas y deben sospecharse en pacientes muy jóvenes (*H. influenzae*) o en ancianos y pacientes inmunodeprimidos (*E. coli*, *P. mirabilis*, *Pseudomonas*, *Serratia*).

El presente trabajo de investigación pretende establecer la importancia del análisis microbiológico de estas muestras clínicas para lograr identificar los microorganismos que afectan con mayor frecuencia al organismo y en que cavidad se pueden encontrar. Además permitirá determinar los grupos de edad que se ven más afectados, además de las causas que permiten se produzca la invasión de cavidades cerradas. Para obtener dicha información se aplicaran los métodos utilizados en el

Laboratorio de Microbiología de la entidad de salud escogida para la investigación.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la incidencia de microorganismos aislados en cavidades cerradas de pacientes atendidos en el laboratorio de microbiología del Hospital General de las Fuerzas Armadas de Quito desde Enero a Diciembre del 2006.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- ♦ Desarrollar las diferentes técnicas que se utilizan en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Militar para la identificación de microorganismos aislados en cavidades cerradas.
- ♦ Determinar las cavidades que son más susceptibles a ser invadidas por un microorganismo oportunista.
- ♦ Identificar los microorganismos que son aislados con mayor frecuencia en cavidades cerradas.
- ♦ Determinar los grupos de edad y sexo más vulnerables a adquirir infecciones en cavidades cerradas.
- ♦ Conocer las complicaciones que se pueden presentar en los pacientes involucrados en el presente estudio.
- ♦ Proporcionar orientación a los pacientes sobre las diversas enfermedades que pueden producirse en las cavidades cerradas del organismo, para así brindar un beneficio a la comunidad.

V.

MARCO TEORICO

CONCEPTUAL

ESQUEMA DEL MARCO TEORICO CONCEPTUAL

CAPITULO I

1. CAVIDADES CERRADAS DEL CUERPO HUMANO

- 1.1. Introducción
- 1.2. Componentes del Cuerpo Humano
- 1.3. Cavidades del Cuerpo Humano
- 1.4. Clasificación

CAPITULO II

2. CAVIDAD CEREBRAL

2.1. Líquido Cefalorraquídeo (LCR)

- 2.1.1. Anatomía y fisiología del LCR
- 2.1.2. Funciones
- 2.1.3. Composición
- 2.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en LCR
- 2.1.5. Patología y epidemiología de infecciones meníngeas
- 2.1.6. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras
- 2.1.7. Detección al microscopio de agentes etiológicos
 - 2.1.7.a. Preparación directa en fresco
 - 2.1.7.b. Preparación con tinta china para Cryptococcus
 - 2.1.7.c. Preparación de frotis del sedimento
- 2.1.8. Cultivo de agentes etiológicos

CAPITULO III

3. CAVIDAD TORACICA

3.1. Líquido Pericárdico

- 3.1.1. Anatomía y fisiología del líquido pericárdico
- 3.1.2. Patología y Patogenia
- 3.1.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pericárdico
- 3.1.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras

3.2. Líquido Pleural

3.2.1. Anatomía y fisiología del líquido pleural

3.2.2. Fisiopatología

3.2.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pleural

3.2.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras

CAPITULO IV

4. CAVIDAD ABDOMINAL

4.1. Líquido Peritoneal

4.1.1. Anatomía y fisiología del líquido peritoneal

4.1.2. Patología y Patogenia

4.1.3. Líquido Ascítico

4.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en líquido peritoneal

4.1.5. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras

CAPITULO V

5. CAVIDAD ARTICULAR

5.1. Líquido Sinovial

5.1.1. Anatomía y fisiología del líquido sinovial

5.1.2. Microorganismos que se pueden aislar en líquido sinovial

5.1.3. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras

CAPITULO VI

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO PARA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN CAVIDADES CERRADAS

6.1. Cocos Grampositivos

6.1.1. Identificación Staphylococcus

6.1.1.a. Frotis directo teñido con Gram.

6.1.1.b. Morfología de colonias

6.1.1.c. Prueba de catalasa

6.1.1.2. Identificación de Staphylococcus Aureus

- 6.3. Identificación de Bacilos gramnegativos no fermentadores**
 - 6.3.1. Morfología de colonias**
 - 6.3.2. Pruebas utilizadas para identificación de bacilos no fermentadores**
 - 6.3.2.a. Fermentación de glucosa**
 - 6.3.2.b. Reacción de citocromo-oxidasa**
 - 6.3.2.c. Motilidad**
 - 6.3.2.d. Sistemas comerciales de identificación**
- 6.4. Identificación de bacterias anaerobias**
 - 6.4.1. Examen directo de muestras clínicas**
 - 6.4.2. Selección de uso de métodos de cultivos**
 - 6.4.3. Incubación de cultivos y observación de colonias**
- 6.5. Identificación de hongos**
 - 6.5.1. Identificación de levaduras**
 - 6.5.1.a. Prueba de tubo germinal**
 - 6.5.1.b. Identificación de Cryptococcus neoformans**
 - 6.5.1.c. Sistemas comerciales para la identificación de levaduras**

CAPITULO I

1. CAVIDADES CERRADAS DEL CUERPO HUMANO

1.1. INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano es un aglomerado de unos cincuenta billones de células, agrupadas en tejidos y organizadas en ocho aparatos (locomotor, respiratorio, digestivo, excretor, circulatorio, endocrino, nervioso y reproductor). Sus elementos constitutivos básicos podrían adquirirse en cualquier parte por un puñado de monedas, pero la vida que alberga estos átomos reunidos con un propósito concreto, lo convierten en un ser de valor incalculable, imposible de calcular con criterios terrenales.

La célula, precisamente, es la unidad de la vida. Todas las células comparten unos elementos esenciales y su organización y agrupamiento constituyen los cuatro tejidos básicos (epitelial, conjuntivo, muscular y nervioso) con los que se forman los órganos y permiten la protección, secreción de sustancias, desplazamiento, coordinación de sus funciones y relación con el medio.

En el cuerpo humano, se distinguen tres grandes regiones:

- ✦ **La cabeza**, compuesta del cráneo y la cara.
- ✦ **El tronco**, compuesto por el tórax y el abdomen, conteniendo éste último la zona pelviana o pelvis.
- ✦ **Los miembros**, divididos en: Superiores e Inferiores.

En el cuerpo existe un alto grado de *simetría sagital*, ya que esa simetría, que es total en el área externa, es parcial en el área interna. La asimetría morfológica interna es claramente apreciable en el abdomen, pero también existe una asimetría funcional interna en el cráneo, donde cada hemisferio del cerebro cumple distintas funciones.

1.2. COMPONENTES DEL CUERPO HUMANO

El cuerpo humano, al igual que el de muchos seres vivos suficientemente evolucionados, está integrado por tres de componentes gracias a la organización de sus células:

Los órganos constituyen unidades que cumplen una función especializada, que aún cuando están integrados por diversos tipos de tejidos y realizan su actividad con el apoyo de otros elementos del cuerpo, tienen una propia individualidad. Ejemplos: la piel, el hígado, el corazón.

Los aparatos son conjuntos de órganos que concurren en forma armónica al cumplimiento de una de las funciones vitales, en cuya estructura no predomina un tipo determinado de tejido. Ejemplos: el aparato locomotor, el aparato digestivo.

Los sistemas también son conjuntos de órganos que concurren al cumplimiento de alguna de las funciones vitales; pero en su estructura predomina un tipo determinado de tejido. Ejemplos: el sistema nervioso, el sistema circulatorio.

1.3. CAVIDADES DEL CUERPO

En el cuerpo humano existen varias cavidades, contenidas en la cabeza y en el tronco. Estas cavidades se dividen en *cavidades abiertas* las cuales contienen principalmente los órganos de los sentidos como la *Cavidad nasal* (aloja la nariz), *Cavidad bucal* (aloja la boca y garganta) y *Cavidades orbitales* (alojan los ojos).

Las *cavidades cerradas* son compartimentos del cuerpo más grandes en cuyo interior se encuentran órganos más complejos e incluso aparatos y sistemas, sus paredes se encuentran humedecidas por líquidos orgánicos estériles que envuelven los órganos sirviendo de amortiguador, protegiéndolos del medio externo y manteniendo constante el medio interno.

1.4. CLASIFICACIÓN DE LAS CAVIDADES CERRADAS

Entre las cavidades cerradas se encuentran:

En la cabeza:

- ♦ **Cavidad craneana**, aloja el cerebro (sistema nervioso central) y se encuentra suspendido en el Líquido Cefalorraquídeo (LCR)

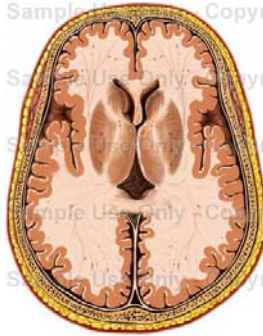
En el tronco se encuentran:

- ♦ **Cavidad torácica**, aloja pulmones y corazón envueltos en el Líquido Pleural y Pericárdico respectivamente.
- ♦ **Cavidad abdominal**, aloja estómago, intestinos, hígado, páncreas, bazo, útero. Estos órganos están inmersos en el Líquido Peritoneal.

Existe una pequeña cavidad que no contiene órganos y que se encuentra entre algunas de las articulaciones, principalmente en las rodillas, cadera y tobillos (articulares diartrosicas). Esta cavidad se denomina **cavidad articular** y contiene un líquido orgánico estéril denominado **líquido sinovial** cuya función es lubricar la articulación y nutrir al cartílago articular avascular.

CAPITULO II

2. CAVIDAD CEREBRAL



2.1. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

2.1.1 Anatomía y fisiología del líquido cefalorraquídeo.

El líquido cefalorraquídeo (LCR) rodea completamente el encéfalo y médula espinal, es decir que es el líquido en el cual se encuentra suspendido el sistema nervioso central, que sirve como elemento de sostén, pero sobre todo de amortiguación ante cualquier traumatismo.

2.1.2 Funciones.-

1. Protección mecánica del tejido neural
2. Reducción del efecto de peso del cerebro de 1500 a 50 gramos.
3. Vía fluida para que sustancias químicas y nutrientes alcancen los espacios intercelulares del cerebro.
4. Transporta metabolitos esenciales para las células neurales y elimina los productos de desecho.
5. Mantener una presión endocraneal constante al interactuar con los otros dos componentes del volumen craneal: parénquima cerebral y sangre circulante.
6. Protección del sistema nervioso central contra cambios agudos en la presión venosa y arterial.
7. Propiedades antibacterianas.

El LCR es producido en los plexos coroideos por células secretoras especializadas ubicadas en la parte central del cerebro, en el tercero y cuarto ventrículo. El líquido fluye alrededor del *espacio subaracnoideo*, impulsado sobre todo por la presión producida inicialmente en el plexo coroideo. El espacio subaracnoideo se encuentra en la *piamadre*, la membrana que cubre directamente el encéfalo, y la *aracnoides*, membrana delicada que cubre el encéfalo y parte de la medula espinal. Estas dos membranas, la *piamadre* y la *aracnoides*, se denominan en forma conjunta *leptomeninges*. El conjunto de membranas que rodean el cerebro, incluyendo la *duramadre*, se denomina *meninges*. La porción de la *aracnoides* que cubre la parte superior del cerebro contiene estructuras especiales, las *vellosidades aracnoideas* que absorben el líquido espinal y permiten que llegue a la sangre. Se produce y se reabsorbe continuamente con una producción aproximada de 500 cc al día. Siendo su volumen en un adulto de unos 110 a 140 cc. Cada 3 - 4 horas el volumen total del LCR es renovado, es decir casi 5 veces al día. El volumen del líquido cefalorraquídeo de un recién nacido es de unos 30 - 40 cc; en un prematuro entre 10 - 30 cc; en un niño de 4 - 13 años, de 65 - 140 cc aproximadamente.

2.1.3. Composición.-

El LCR es un ultrafiltrado del plasma. Su composición es esencialmente la misma del líquido extracelular encefálico. Se compone de proteínas como albúmina, globulinas alfa, beta y gamma; electrolitos como sodio, potasio, cloruro, calcio, magnesio y lactato; además de otros componentes como amonio, creatinina, glucosa, hierro, fósforo, lípidos, urea, urato, zinc entre otros. Posee una osmolaridad de 280 – 300 mOsm/l y contiene la mayor parte de los elementos del plasma, siendo un 99% agua con una densidad de 1.004 – 1.007.

La infección localizada en el espacio subaracnoideo o en las leptomeninges se denomina *meningitis*. En las meningitis bacterianas el

LCR contiene usualmente gran numero de células inflamatorias (más de 1000/mm³), en especial neutrofilos polimorfonucleares, presenta un nivel de glucosa menor en relación con el del suero (la relación normal de glucosa en LCR y sangre es 0.6) y un aumento de la concentración de proteínas (el nivel normal de proteínas es de 15 – 50 mg/100 ml en los adultos y hasta 90 – 170 mg/100 ml en los neonatos). La mayoría de los agentes infecciosos llega a la leptomeninges por diseminación hematógica, penetrando en el espacio subaracnoideo a través de los plexos coroideos o de otros vasos sanguíneos del cerebro. La inflamación del parénquima cerebral, denominada *encefalitis*, generalmente se debe a una infección viral. Con frecuencia se presenta una inflamación concomitante de las meninges, lo cual se denomina *meningoencefalitis*, aunque el filtrado celular es más frecuente que sea linfocítico. En épocas pasadas, cuando a partir de LCR de los pacientes que presentaban síntomas de meningitis no se obtenía desarrollo bacteriano en los cultivos, se decía que ese paciente sufría una *meningitis aséptica*. Otra posibilidad que se debe considerar en el caso de un paciente que haya recibido terapia antibiótica previa, es que se trata de una meningitis bacteriana parcialmente tratada. Con el advenimiento de técnicas más refinadas y de cultivos celulares muchos casos de “meningitis aséptica” pueden atribuirse actualmente a etiología viral. Las meningitis asépticas también pueden ser causadas por tumores, quistes, drogas, sarcoidosis u otras causas no infecciosas.

Existen ocasiones en que además del LCR, en la cavidad craneana se suelen encontrar otros líquidos de origen patológico que son de importancia clínica y por ende requieren estudios microbiológicos. Entre estos líquidos los más comunes son los líquidos contenidos en los abscesos cerebrales, y que no son considerados como líquidos estériles debido a su procedencia.

2.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en líquido cefalorraquídeo.

El LCR, es uno de los líquidos estériles del cuerpo, es decir que normalmente en él, hay ausencia de microorganismo alguno. Existen factores que favorecen la invasión de microorganismos al LCR, ocasionando así meningitis agudas, generalmente causadas por bacterias capsuladas; o crónicas, debidas a *Mycobacterium tuberculosis*, otras bacterias u hongos.

Los agentes etiológicos de *meningitis agudas* son:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Bacilos gramnegativos como Flavobacterium meningosepticum.*
- *Listeria monocytogenes*
- *Stafilococos*
- *Leptospira*
- *Treponema pallidum*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Naegleria o Acanthamoeba*
- *Virus (usualmente enterovirus)*
- *Angiostrongylus cantonensis*
- *Toxoplasma gondii*

En los pacientes inmunocomprometidos con frecuencia, pero no siempre, se observa *meningitis crónicas*. Los agentes etiológicos de las meningitis crónicas son:

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Coccidioides immitis*
- *Histoplasma capsulatum*
- *Blastomyces dermatitidis*
- *Cándida*
- *Otros hongos misceláneos*
- *Nocardia*
- *Actinomyces*
- *Treponema pallidum*
- *Brucella*
- *Salmonella*
- *Parásitos poco frecuentes, Toxoplasma gondii, Cisticercos, Paragonimus*

2.1.5. Patogenia y epidemiología de las infecciones meníngeas.

La mayoría de los casos de meningitis causados por bacterias o de encefalitis debidas a virus comparten la misma patogenia. El agente etiológico choca con la mucosa de la nasofaringe y orofaringe, se fija mediante un mecanismo de adhesión y se multiplica en la puerta de entrada. De algún modo el microorganismo invade o es llevado a través de los tejidos al torrente sanguíneo, donde se disemina dando una fase de bacteriemia o viremia. En los pacientes protegidos probablemente actúe en esta etapa la inmunidad humoral; los anticuerpos se fijan a las cápsulas bacterianas y favorecen su fagocitosis por opsonización. Los microorganismos llegan al LCR a través de la pérdida de la integridad capilar o por algún otro mecanismo y se multiplican allí, inicialmente libres de anticuerpos o células fagocíticas. Los mejores patógenos son los microorganismos que capaces de adherirse al epitelio de la mucosa y de evadir la destrucción por poseer una cápsula antifagocítica. En pacientes con inmunosupresión otros patógenos pueden tomar ventaja y provocar enfermedad. Los pacientes con prótesis, en especial un "shunt" en

sistema nervioso central, contiene un mayor riesgo de desarrollar meningitis debido a especies menos “virulentas”, como organismos que forman parte de la flora normal de la piel, difteroides aerobios y anaerobios y *Stafilococcus epidermidis*.

Los virus pueden llegar al cerebro a través de la corriente sanguínea, pero también pueden viajar a lo largo de los nervios que llegan al cerebro (virus herpes simple) o por el tracto olfatorio (adenovirus). Las infecciones con localizaciones próximas al cerebro, como sinusitis y absceso subdural pueden llevar a una meningitis. Los pacientes con meningitis presentan síntomas como fiebre, rigidez de la nuca, cefalea, náuseas y vómito, carencias sensoriales y alteraciones mentales.

La posibilidad de que una bacteria llegue a causar una meningitis depende de numerosos factores, de los cuales la edad del paciente es la más importante. El grupo etario con mayor prevalencia de meningitis es el de los neonatos, con un alto índice de mortalidad que puede llegar hasta el 20%. Los agentes que afectan a los recién nacidos son diferentes de los que atacan a otros grupos etarios; muchos de estos agentes, de origen materno, son adquiridos por el niño al pasar por el canal del parto. Los agentes que atacan a este grupo son, en orden de incidencia: *Streptococcus del grupo B*, *Escherichia coli*, otros bacilos gramnegativos, *Listeria monocytogenes* y otros organismos. El *Flavobacterium meningosepticum* se asocia con brotes de meningitis en salas de neonatología, esto se debe a que es un habitante normal del agua y por tanto se trata de una contaminación nosocomial. La prevalencia de estos microorganismos se debe probablemente a la inmadurez del sistema inmune de los neonatos.

Los factores que predisponen a los adultos a desarrollar una meningitis son con frecuencia los mismos que los predispone a adquirir una neumonía u otra infección o colonización del tracto respiratorio, ya que

ésta es la puerta de entrada de muchos agentes etiológicos de meningitis. El alcoholismo, esplenectomía, diabetes mellitus, prótesis e inmunosupresión aumentan el riesgo. Las causas importantes de meningitis en los adultos jóvenes después del *Meningococo* incluyen el *Neumococo*, *L. monocytogenes* y con menos frecuencia *Staphylococcus aureus* y varios bacilos gram negativos. Estos últimos provocan una meningitis por diseminación hematológica a partir de distintos focos, incluyendo infecciones del tracto urinario.

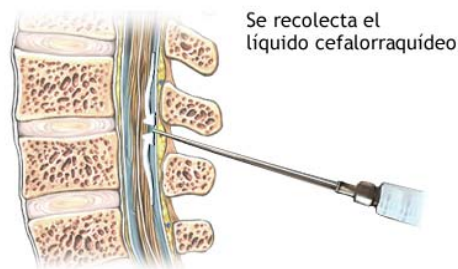
En los meses más cálidos son frecuentes las encefalitis virales, que no siempre pueden distinguirse clínicamente de la meningitis. Los agentes más importantes son los *Enterovirus* (*coxsackie A y B*, *Echo*), *virus de paperas*, *herpes simple* y *arbovirus* (*toga*, *bunya*, y otros *virus de encefalitis*). Con menor frecuencia se encuentran *Virus de sarampión*, *Citomegalovirus*, *Epstein Barr*, *Hepatitis*, *Varicela-zoster*, *Rabia* y *Mixovirus*.

Los parásitos pueden causar meningoencefalitis, absceso cerebral u otras infecciones del sistema nervioso central por dos vías. Las amebas de vida libre *Naegleria fowleri* y *Acanthamoeba* invaden directamente el cerebro a través de la mucosa nasal. La *toxoplasmosis* es una infección del sistema nervioso central común en los pacientes con SIDA. La infección cerebral por amebas y *Taenia solium*, denominada *cisticercosis* provocan alteraciones del LCR que semejan una meningitis.

2.1.6. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras.

El LCR se recoge insertando asépticamente una aguja en el espacio subaracnoideo o a nivel de las vértebras lumbares (**Anexo N° 1, Fig. 1, 2 y 3**). Se recomienda tomar 3 o 4 tubos los cuales se emplean para el recuento celular y diferencial, análisis microbiológico y citoquímico, además si durante la punción se perfora algún capilar, las células sanguíneas no se encontraran en el último tubo, es por esto que la

recolección de varios tubos es de mucho interés. De esta forma se puede concentrar una mayor parte de líquido total, lo que nos ayuda a aislar agentes infecciosos que se encuentren en escasa cantidad, el sobrenadante puede usarse para otros estudios requeridos (1).



El volumen de LCR es fundamental en la detección de ciertos microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis* y *Cryptococcus neoformans*. Se recomienda usar por lo menos 10 ml de LCR que se sospeche contiene dichos patógenos, para el análisis por centrifugación y cultivo. Cuando se recibe una cantidad insuficiente se debe consultar al clínico con respecto al orden de prioridad de los análisis de laboratorio.

Las muestras de LCR deben ser llevadas de inmediato al laboratorio, nunca deben ser refrigeradas. Si no se las procesa en el momento deben ser incubadas o dejadas a temperatura ambiente. Una excepción a esta regla son las muestras para investigación viral, las mismas que pueden ser refrigeradas durante 24 horas o congeladas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ si se prevé una mayor demora en su análisis. El examen inmediato de la muestra permite al microbiólogo determinar el agente etiológico en 30 minutos, lo cual ayuda al clínico a establecer o corregir la terapia.

El proceso inicial de LCR para estudio bacteriológico, micológico o parasitológico incluye:

- Centrifugación de todas las muestras mayores a 1 ml a 1500 rpm durante 15 minutos.

(1) Zurita, J., Recolección y transporte de muestras en Microbiología Clínica. Organización Panamericana de Salud. 2004.

- Decantar el líquido sobrenadante en un tubo estéril, dejando aproximadamente 0.5 ml para resuspender el sedimento con la ayuda de un vortex antes de ser inoculado u observado en el microscopio. Esta resuspensión es crítica; los laboratorios que usen una pipeta capilar estéril para tomar porciones del sedimento atravesando el sobrenadante, perderán un número importante de muestras positivas. Se debe resuspender el sedimento mediante agitación con un vortex o con aspiración y expulsión mediante una pipeta estéril, para así dispersar los microorganismos que se adhieren al fondo del tubo luego de la centrifugación. El sobrenadante se emplea para detectar la presencia de antígenos o para el análisis químico. Aunque no se necesite en ese momento el sobrenadante, se debe conservar por cualquier eventualidad.

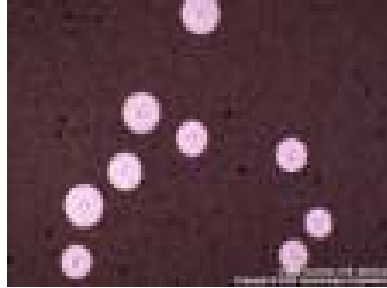
2.1.7. Detección al microscopio de agentes etiológicos.

2.1.7.a. Preparación directa en fresco.

Es recomendada para la observación de amebas, la misma que se realiza con éxito mediante el examen en fresco del sedimento, bien resuspendido, usando un microscopio con contraste de fases, o en tal caso un microscopio de campo claro con el condensador levemente cerrado. Además, el fresco nos permite la observación de células sanguíneas y demás elementos que se pueden encontrar.

2.1.7.b. Preparación con tinta china para Cryptococcus.

Una gota de LCR se mezcla con un tercio de su volumen de tinta china. Para evitar la contaminación de esta se debe agregar una gota de Merthiolate a la botella cuando se abre por primera vez. Luego de mezclar el LCR con la tinta china se tapa con un cubreobjetos y examina con aumento de x 400. La presencia de células levaduriformes características puede confirmarse con lente de inmersión. Se debe tener cuidado de no confundir leucocitos con levaduras, la presencia de brotes encapsulados, más pequeños que la célula madre, confirma el diagnóstico.



2.1.7.c. Preparación de frotis del sedimento.

Todos los sedimentos de LCR deben ser coloreados con la tinción de Gram. Se coloca una gota sobre un portaobjetos estéril o lavado con alcohol, dejar secar. Se fija el preparado por calor o metanol y se colorea con Gram o Naranja de Acridina, el cual permite un examen más rápido y cuidadoso.

2.1.8 Cultivo de agentes etiológicos

Luego de la resuspensión del sedimento y preparación de los frotis, varias gotas del sedimento deben ser inoculadas en cada medio, los mismos que incluyen, una placa de *agar chocolate*, agar con 5% de sangre de oveja y caldo de enriquecimiento como el *tioglicolato* sin indicador. Incubar las placas a 37 °C en 5 - 10% de CO₂, durante por lo menos 72 horas. El tioglicolato debe ser incubado en aire normal a 37 °C durante 5 días. La tapa del tioglicolato debe estar floja para permitir el intercambio gaseoso. Si la tinción de Gram indica bacilos gramnegativos se debe incluir una placa de agar *MacConkey* a los medios iniciales.

En el caso de **investigación de hongos**, el LCR debe ser filtrado a través de una membrana con poro 0.45 micras unida a una jeringa estéril, luego el filtro se coloca sobre la superficie de un medio adecuado para hongos (*Mycosel* y *Sabouraud*), los mismos que deben incubarse en aerobiosis a 30 °C durante 1 mes. Si fuera posible inocular dos series de medios, uno a 30 °C y otro a 35 °C. Se debe observar diariamente las placas, además de trasladar el filtro a otra zona del medio cada 48 horas. Si el volumen total es menor a 2 ml, se debe centrifugar y colocar una

gota del sedimento sobre distintas áreas de la superficie del agar. Las muestras deben ser procesadas de inmediato, si esto no es posible, se mantendrán a temperatura ambiente o a 30 °C, ya que esta temperatura es óptima para la reproducción de ciertos microorganismos (2).

(2) Konemam, E., Allen, S., Diagnostico Microbiológico. 5^a Edición. Editorial Médica Panamericana. 2004.

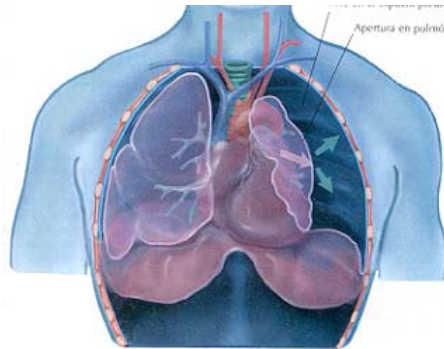
CAPITULO III

3. CAVIDAD TORACICA

3.1 LIQUIDO PERICARDICO

3.1.1 Anatomía y fisiología del líquido pericardico.

El corazón y los vasos sanguíneos más próximos están rodeados por un tejido protector, el *pericardio*. El área entre el músculo cardiaco y el pericardio, el *espacio pericardico*, contiene normalmente un líquido transparente de color ligeramente pajizo. Este líquido es un ultrafiltrado plasmático, y reabsorbido también por continuamente por los linfáticos cercanos a la base del corazón a través de los capilares epicardicos. Su cantidad es muy pequeña, desde unos 10 - 15 cc en el lactante a unos 15 - 40 cc en un adulto. Su aumento se llama *derrame pericardico*.



3.1.2 Patología y patogenia.

El derrame pericardico puede ser agudo o crónico. Una acumulación de 200 cc en forma aguda puede causar taponamiento cardiaco fatal, mientras que la acumulación de 1500 cc en forma lenta, puede causar prácticamente inadvertida. Los derrames pericardicos pueden ser exudados o trasudados, sin que sea muy clara esta delimitación al examen del líquido en determinadas ocasiones. Es trasudado si su origen es netamente mecánico, como ocurre en una disminución notable de proteínas plasmáticas, o una obstrucción del drenaje linfático pericardico. Los exudados son en general derrames producidos por fenómenos

inflamatorios, bien sea del tipo de infecciones o asépticas (enfermedades del colágeno, etc.).

Si un agente infeccioso se encuentra en el líquido, el pericardio puede presentarse distendido, tenso y en ocasiones puede aparecer una interferencia con la función cardíaca y la circulación. Los agentes etiológicos de las *pericarditis* (inflamación del pericardio), generalmente son virus, aunque también pueden estar asociados parásitos, bacterias y ciertos hongos. Por otra parte, la *pericarditis* es posible que se deba a causas no infecciosas. Una *pericarditis* puede estar acompañada por la inflamación del propio músculo cardíaco, *miocarditis*. La respuesta inflamatoria del huésped también participa en la patogenia y contribuye al aumento de la cantidad de líquido y al daño celular y tisular.

3.1.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pericardico.

Los agentes etiológicos más comunes de las *pericarditis* y *miocarditis* son los enterovirus, principalmente los coxsackie A y B. los virus echo, adeno, influenza y otros que desempeñan un papel menos importante. Entre los agentes no virales pueden encontrarse:

- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydia*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gramnegativos aerobios
- *Bacterias anaerobias*
- *Coccidioides immitis*
- *Aspergillus sp.*
- *Cándida sp.*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Histoplasma capsulatum*
- *Entamoeba histolytica*

- *Toxoplasma gondii*

Sin embargo también han sido encontradas otras bacterias, hongos y parásitos; por lo tanto deben investigarse todos los agentes. Los pacientes que desarrollan pericarditis debidas a agentes no virales con frecuencia sufren alguna deficiencia.

3.1.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras.

La recolección de la muestra se hace mediante aspiración con una aguja, con control electrocardiográfico, o durante un procedimiento quirúrgico. El personal de laboratorio debe ser advertido de modo que se pueda disponer de los medios para cultivo, cultivos celulares y técnicas de tinción. El líquido pericardico debe ser procesado igual que los demás líquidos orgánicos estériles, tanto en la utilización de los medios de cultivo y tinciones.

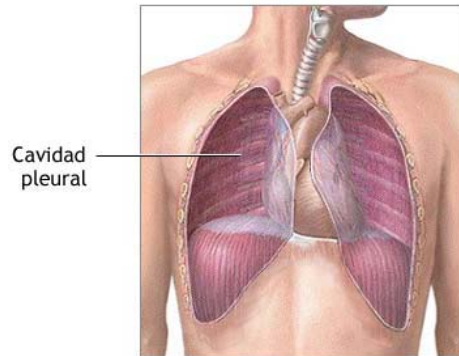
3.2. LIQUIDO PLEURAL

3.2.1. Anatomía y fisiología del líquido pleural.

El líquido pleural constituye el líquido transparente acumulado dentro del espacio pleural que se extiende entre el pulmón y la pared de tórax, es decir entre las dos pleuras, parietal y visceral. Cumple la función de humedecer las caras de las pleuras y facilita el deslizamiento de la una sobre la otra durante los movimientos respiratorios. En condiciones normales el líquido existente solo alcanza para mantener húmedas las pleuras. Cualquier aumento se denomina derrame o efusión pleural, que se manifiesta cuando la cantidad de líquido producido es mayor que la cantidad de líquido reabsorbida, bien sea por un exceso de la primera o un déficit de la segunda.

Se produce como un ultra filtrado plasmático a través de orificios de la pared de los capilares de la pleura parietal y se reabsorbe en los linfáticos de la pleura visceral que drenan en los ganglios traqueobronquiales, mediastinitos e infradiafragmaticos; el resto se reabsorbe por convección

a través del mesotelio en el pulmón o la pared torácica. Pequeña cantidad entra al espacio pleural, procedente de la cavidad peritoneal a través de muy pequeños agujeros en diafragma.



3.2.2. Fisiopatología.

Los derrames pleurales se dividen en *exudados* y *trasudados*. Los primeros tienen su origen en procesos inflamatorios con lesión de la pared capilar (infecciones, neoplasias), mientras que los trasudados son producidos básicamente por fuerzas mecánicas del tipo de aumento de la presión hidrostática capilar, disminución de la presión oncótica del plasma o por disminución de la reabsorción linfática, son consecuencias de un proceso maligno, un infarto pulmonar o una enfermedad autoinmune en la cual una reacción antígeno-anticuerpo inicia una respuesta inflamatoria. Las efusiones pleurales que contienen abundantes neutrófilos polimorfonucleares, sobre todo los que son netamente purulentos se denominan *líquidos de empiema*. El empiema en general es secundario a una neumonía, pero otras infecciones localizadas en áreas próximas al pulmón (infecciones subdiafragmáticas) pueden diseminar los microorganismos en la cavidad pleural.

3.2.3. Microorganismos que se pueden aislar en líquido pleural.

Las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia del líquido pleural incluyen aquellas relacionadas con neumonías, como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y anaerobios. Los microorganismos

anaerobios en el líquido pleural se presentan luego de una neumonía por aspiración o de sus complicaciones, como un absceso pulmonar. Con menos frecuencia pueden encontrarse otros estreptococos, *Mycobacterium tuberculosis* u otras micobacterias, *Actinomyces sp.*, *Nocardias sp.*, hongos y rara vez Mycoplasma o virus.

3.2.4. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras.

Usualmente a los laboratorios de microbiología llegan los *exudados*. Este líquido, efusión pleural, se recoge por aspiración con una aguja (*toracocentesis*) y es enviado al laboratorio como “*liquido pleural*”, “*liquido de toracocentesis*” o “*liquido de empiema*”.

El líquido pleural, así como los otros líquidos normalmente estériles del organismo, deben ser transportados al laboratorio en un tubo o frasco ampolla estéril que excluya el oxígeno. Para el aislamiento de la mayoría de las bacterias es suficiente una muestra de 1 – 5 ml, pero cuanto mayor sea el volumen habrá mejores probabilidades de aislamiento de algunos patógenos como *M. tuberculosis* y hongos. Las muestras que se reciben en frascos ampolla para transporte anaerobio o en jeringas deben ser inoculadas tan pronto como sea posible a los medios aerobios y anaerobios de rutina (agar sangre, chocolate y McConkey). Deben examinarse frotis teñidos con Gram y ácido alcohol resistente modificado para identificar *Nocardia*. Las muestras en las que solo se investigaran hongos pueden ser transportadas en tubos estériles con tapa rosca y ser inoculados en medios adecuados para su desarrollo (*Mycose/* y *Sabouraud*). Las muestras para investigación de hongos además de ser teñidas con Gram, deben realizarse una visualización de elementos fúngicos con KOH al 10%.

Las muestras que son suficientemente fluidas se concentran por centrifugación a 1500 rpm durante 15 minutos por lo menos. Se decanta el sobrenadante o se aspira con una pipeta estéril. Además de las formas

filamentosas, el material de la cavidad torácica puede contener esferulas de Coccidioides o células levaduriformes en gemación como Cryptococcus neoformans para lo cual se realizara una observación de la muestra mezclada con tinta china.

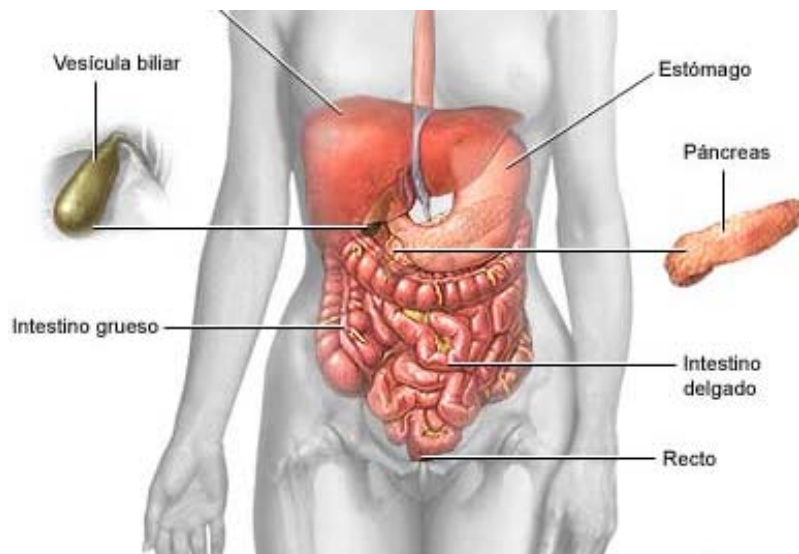
CAPITULO IV

4. CAVIDAD ABDOMINAL

4.1. LIQUIDO PERITONEAL

4.1.1. Anatomía y fisiología del líquido peritoneal.

La cavidad peritoneal rodea al hígado, páncreas, bazo, estómago y tracto intestinal, vejiga urinaria, trompas de Falopio y ovarios. Los riñones ocupan un espacio retroperitoneal. En la cavidad peritoneal de un ser humano sano existe una pequeña cantidad de líquido que mantiene la humedad de la superficie de los órganos internos y del peritoneo. El líquido peritoneal normal puede contener hasta 300 leucocitos por ml pero el contenido proteico y la densidad son bajos.



4.1.2. Patogenia y patología

Los agentes infecciosos pueden llegar a invadir al peritoneo por perforación intestinal, infección de las vísceras abdominales, por vía hematológica o por inoculación externa (como cirugía o traumatismo). En ocasiones, como en la inflamación pélvica, los microorganismos atraviesan los canales naturales de las trompas de Falopio, penetrando en la cavidad peritoneal. En la *peritonitis primaria* no se observa un foco

evidente de infección, mientras que en una *peritonitis secundaria* implica la lesión de una víscera u otra fuente conocida de infección.

4.1.3. Líquido ascítico.

Durante un proceso infeccioso o inflamatorio se acumula en la cavidad peritoneal una mayor cantidad de líquido que recibe el nombre de **ascitis o líquido ascítico**, el cual contiene un número elevado de células inflamatorias y un alto nivel proteico. El término ascitis indica una acumulación de líquido dentro de la cavidad abdominal pero usualmente se aplica a las acumulaciones de líquido seroso (generalmente trasudado) que casi siempre es de origen renal (síndrome nefrótico) o cardíaco (insuficiencia cardíaca) o como parte de un síndrome de poliserositis, siendo exudado en este último caso (lupus eritematoso diseminado). Otra causa muy importante es obstrucción de la circulación porta por cirrosis hepáticas, o por adenopatías, tumores o trombosis.

4.1.4. Microorganismos que se pueden aislar en líquido peritoneal.

Los microorganismos que se encuentran en pacientes con peritonitis primaria varían con la edad. En los niños los agentes etiológicos más comunes son *Streptococcus pneumoniae*, y otros estreptococos del grupo A, aunque también pueden aislarse *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gramnegativos así como estafilococos.

En los adultos, *Escherichia coli* es la bacteria que se aísla con mayor frecuencia, seguida por *S. pneumoniae* y estreptococos del grupo A. La peritonitis polimicrobiana es poco usual cuando el proceso solo se debe a bacterias aerobias. *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* son agentes etiológicos comunes de las infecciones peritoneales, que se presentan con frecuencia en forma de perihepatitis (inflamación de la superficie del hígado denominada *síndrome de Fitz-Hugh-Curtis*). Actualmente la peritonitis tuberculosa es poco común, pero puede encontrarse en personas recién llegadas de Sudamérica, Asia u otras

áreas subdesarrolladas. Las peritonitis de etiología micótica son poco frecuentes pero es posible encontrar *Cándida sp.* de pacientes inmunosuprimidos o de los que han sido sometidos a una terapia antimicrobiana prolongada.

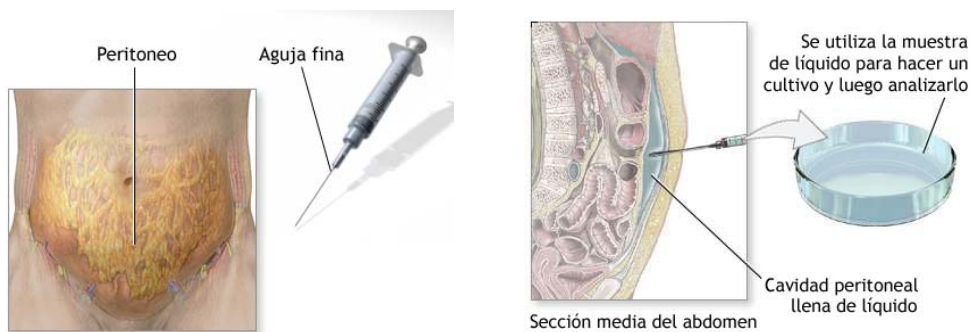
Una peritonitis es la secuela de la perforación de una víscera, cirugía, lesión traumática o pérdida de la integridad de la mucosa intestinal debida a enfermedades destructivas (colitis ulcerosa, cáncer), obstrucción o a una infección precedente (absceso hepático, salpingitis, septicemia, etc.). Dependerá de la naturaleza y etiología del proceso subyacente el tipo de agente que se encontrara del líquido peritoneal.

En el caso de inflamación pélvica se aislaran gonococos, anaerobios o clamidias. Si se trata de una peritonitis o absceso intraabdominal, usualmente se encontrara anaerobios junto a Enterobacteriaceae y enterococos u otros estreptococos. Los pacientes cuya flora ha sido alterada por un tratamiento con agentes antimicrobianos se encontrara obviamente bacilos gramnegativos y *Staphylococcus aureus* más recientes. Dado que en el intestino el número de anaerobios sobrepasa 1000 veces al de aerobios, no sorprende que los microorganismos anaerobios desempeñan un papel prominente en las infecciones intraabdominales, actuando tal vez en forma sinérgica con bacterias facultativas. Los organismos que pueden ser aislados incluyen *E. coli*, el grupo de *Bacteroides fragilis*, enterococos y otros estreptococos, otras especies de *Bacteroides*, bacilos gramnegativos anaerobios, cocos grampositivos anaerobios y clostridios (3).

(3) Nieto, J., Sepsis Abdominal. Infecciones en cirugía. Editorial Panamericana. Bogota-Colombia. 2001.

4.1.5 Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras.

Las muestras se obtienen por aspiración percutánea con aguja (paracentesis) (**Anexo N° 2. Fig. 1 y 2**) o durante la cirugía y se envía al laboratorio para examen directo y cultivo. El transporte debe realizarse en un frasco ampolla para anaerobios. Por lo general es suficiente 1 – 5 ml de líquido para el diagnóstico de una peritonitis, pero siempre es conveniente obtener una muestra de mayor volumen. Como en todo material que se presume que contiene anaerobios, estas muestras deben ser inoculadas lo más pronto posible. Si se recibe un volumen grande de líquido limpio o serosanguinolento, se debe someter a centrifugación a 1500 rpm por 15 min. De igual manera para el aislamiento de hongos, y virus se deben escoger los medios adecuados para su desarrollo y conservación.



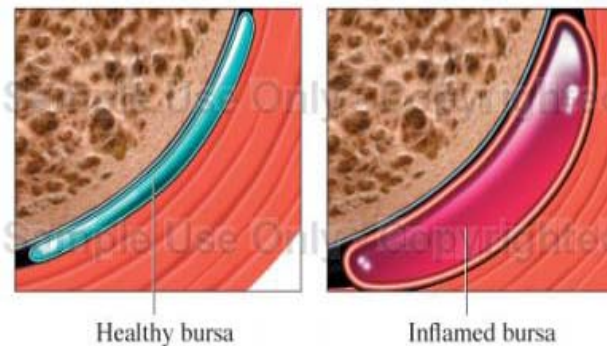
CAPITULO V

5. CAVIDAD ARTICULAR

5.1. LIQUIDO SINOVIAL

5.1.1. Anatomía y fisiología del líquido sinovial.

Es un líquido transparente, viscoso, contenido en las cavidades articulares diartrosicas, compuesto por agua, proteínas y glucosa dializadas del plasma y ácido hialurónico secretado por las células de la membrana sinovial y cuya función es lubricar la articulación y nutrir al cartílago articular avascular. Además tiene de 50 a 200 monocitos por mm³ por remoción de partículas y defensa local. Los electrolitos se encuentran en una proporción semejante a la del plasma. Hay normalmente 0.5 a 4 ml de líquido sinovial dependiendo del tamaño de la articulación.



5.1.2. Microorganismos que se pueden aislar en líquido sinovial.

La presencia de bacterias es trascendental, puesto que es un líquido estéril, por lo que permite hacer el diagnóstico de artritis séptica. Sin embargo, como el líquido mismo puede inhibir el crecimiento de muchos organismos al cultivarlo, en un 50% de los casos, la única oportunidad de observar el agente etiológico es mediante el examen directo, gracias a la tinción de Gram.

La artritis infecciosa puede localizarse en cualquier articulación del organismo. Se produce en forma secundaria a la diseminación hematológica de las bacterias o, rara vez, de los hongos. También puede presentarse luego de alguna inyección en las articulaciones o luego de la inserción de una prótesis. Aunque generalmente la artritis infecciosa se presenta en una sola localización (monoarticular) una bacteriemia o fungemia preexistente puede infectar más de una articulación, dando un proceso poliarticular. Las localizaciones más comunes son caderas y rodillas. Además de las debidas a infecciones asociadas con la presencia de microorganismos viables dentro de la articulación, se conocen otras artritis autolimitadas, estériles, causadas por interacciones antígeno-anticuerpo posteriormente a un episodio infeccioso como una meningitis meningocócica. De modo que cuando no se aíslan microorganismos de una muestra de articulación inflamada, puede pensarse en una deficiencia en el transporte como en la ausencia real de microorganismos viables.

El *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más común de las artritis sépticas siendo responsable del 70% de ellas, a pesar de que en adultos menores de 30 años *N. gonorrhoeae* se aísla con más frecuencia. *H. influenzae* es el agente más común de bacteriemia en menores de 2 años y en consecuencia la causa más frecuente de artritis seguida por *S. aureus*. Los *Streptococos* de los grupos A y B, *neumococos* y *S. viridans* son agentes asociados a artritis infecciosa en pacientes de todas las edades. Alguno de los agentes bacterianos y micóticos asociados a artritis infecciosa son los siguientes:

- *S. Aureus*
- *Streptococos betahemolíticos*
- *Otros Streptococos*
- *H. Influenzae*
- *Haemophilus sp.*
- *Bacteroides sp.*

- *Fusobacterium sp.*
- *Neisseria Gonorrhoeae*
- *Pseudomonas*
- *Salmonella sp.*
- *Pasteurella multocida*
- *Moraxella osloensis*
- *Branhamella catarrhalis*
- *Capnocytophaga sp.*
- *Corynebacterium sp.*
- *Clostridium sp.*
- *Peptostreptococcus sp.*
- *Eikenella corrodens*
- *Actinomyces sp.*
- *Mycobacterium sp.*
- *Ureaplasma Urealyticum*
- *Borrelia Burgdorferi*
- *Cándida sp.*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Coccidiodes inmitis*
- *Sporothrix schenckii*

La mayoría de estos agentes estimulan una respuesta inflamatoria del huésped y ésta respuesta es en última instancia, la responsable de la patología de la infección. La artritis también es un síntoma asociado con enfermedades infecciosas causadas por agentes como *Neisseria meningitidis* y *Streptobacillus moniliformis* en las cuales el microorganismo no se recupera del líquido sinovial. Otros agentes como virus, levaduras y micoplasmas son causa poco frecuente de artritis infecciosa, pero deben ser considerados.

Las infecciones en las articulaciones donde se implanta una prótesis están por lo general asociadas con agentes diferentes de los observados

en las articulaciones naturales. Estos llegan a la prótesis durante el proceso quirúrgico y se multiplican lentamente hasta que alcanzan una masa crítica y estimulan la respuesta del huésped. Esto puede suceder mucho tiempo después de la cirugía inicial. En estos casos los miembros de la flora cutánea son los agentes etiológicos más comunes

5.1.3. Recolección, transporte y manejo inicial de las muestras.

Las muestras se toman por aspiración con jeringa y aguja estériles. El espécimen se inocula en diversas placas con agar incluyendo alguno que permita el desarrollo de microorganismos exigentes, como agar chocolate y en un caldo enriquecido como tioglicolato. Si se sospecha de la presencia de hongos deben inocularse en medios adecuados para su aislamiento (*Mycosel* y *Sabouraud*). También deben realizarse tinciones de Gram. y preparaciones con KOH al 10% o blanco de calcofluor para hongos y tinción alcohol resistencia para micobacterias.



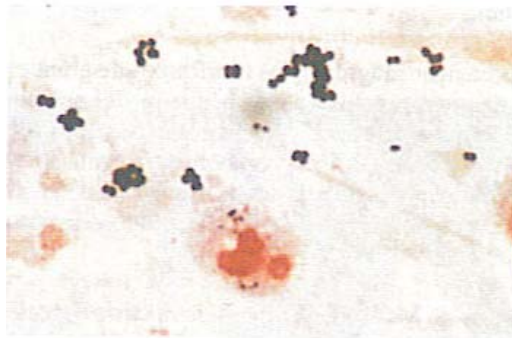
Se introduce la aguja en la articulación y se extrae líquido

CAPITULO VI

6. METODOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO PARA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN CAVIDADES CERRADAS

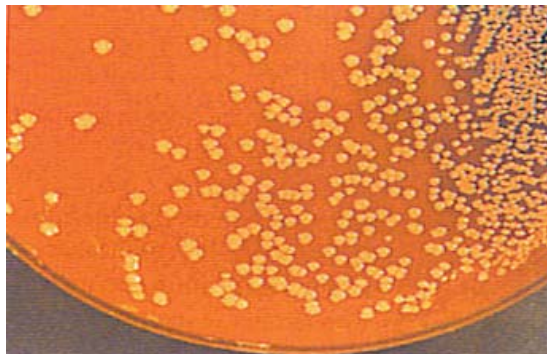
6.1. IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS

6.1.1.a. Frotis directos teñidos con Gram.



En los frotis teñidos con Gram provenientes de muestras clínicas, los estafilococos aparecen como cocos grampositivos o gramvariables de un tamaño que varía de 0.5 μm a más de 1 μm de diámetro. Los microorganismos pueden aparecer aislados, en pares, en cadenas cortas o en grupos, tanto dentro como fuera de leucocitos polimorfonucleares.

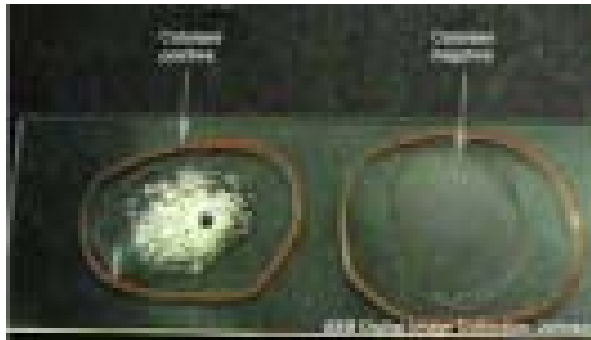
6.1.1.b. Morfología de las colonias.



Las especies de estafilococos producen colonias características en agar sangre de carnero. Las colonias de la mayoría de estafilococos se

desarrollan con rapidez en 24 horas de incubación y miden entre 1 y 2 mm de diámetro. Las colonias habitualmente son lisas, mantecosas y ligeramente convexas con bordes enteros. Las colonias de algunas cepas de *S. aureus* pueden ser pigmentadas de amarillo o amarillo-naranja, en tanto que otras cepas pueden producir colonias de color blanco sucio o gris. Estas últimas cepas pueden parecer estreptococos del grupo D y enterococos (catalasa-negativos). Algunos *S. aureus* y algunas especies coagulasa-negativas pueden tener una zona evidente o difusa de B-hemólisis alrededor de las colonias; esta propiedad hemolítica se hace evidente solo después de una prolongada incubación (**Anexo N° 3., Fig. N° 1**)

6.1.1.c. Prueba de Catalasa.



Los microorganismos de la familia *Micrococcaceae* se diferencian de la familia *Streptococcaceae* por la prueba de catalasa. Esta prueba detecta la presencia de citocromooxidasas presente en las micrococcaceae. La prueba se hace con peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3% sobre un portaobjetos. La producción inmediata y abundante de burbujas indica la conversión del H_2O_2 en agua y oxido gaseoso. Idealmente la prueba de catalasa debe realizarse a partir de un medio que no contenga sangre por que los eritrocitos por si mismo pueden producir una reacción de catalasa débil. Sin embargo como en la mayoría de laboratorios se utiliza agares que contienen sangre, se recomienda tomar la parte superior de las colonias evitando la contaminación con sangre, esto puede hacerse con un palillo de madera.

6.1.1.2. IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

La característica más confiable para identificar *S. aureus* es la prueba de coagulasa, la cual puede llevarse a cabo en un portaobjetos o en tubo, siendo esta última la más utilizada debido a que permite una mejor apreciación de los resultados y por ende constituye un procedimiento de referencia en la identificación de *S. aureus*.

6.1.1.2.a. Prueba de coagulasa en tubo.



La coagulasa detectada por este método es secretada en forma extracelular y reacciona con una sustancia presente en el plasma denominada “**factor de reacción coagulasa (CRF)**” para formar un complejo que, a su vez, reacciona con el fibrinógeno para formar fibrina (formación de coágulos). Las pruebas negativas después de 4 horas de incubación a 35°C deben ser mantenidas a temperatura ambiente y leídas nuevamente a las 18-24 horas, porque algunas cepas pueden producir fibrinolisininas por incubación prolongada a 35°C, ocasionando disolución del coágulo.

El medio recomendado para el procedimiento de la prueba es el plasma de conejo con EDTA. No debe utilizarse plasma citratado porque los microorganismos que son capaces de metabolizar el citrato (*Enterococcus*) darán resultados positivos. Este error puede ser evitado efectuando en primer lugar la prueba de catalasa. El plasma humano (material vencido de los bancos de sangre) contiene cantidades variables de CRF y de anticuerpos antiestafilococo y no debe ser utilizado.

6.1.1.2.b. Fermentación del manitol

NEGATIVO



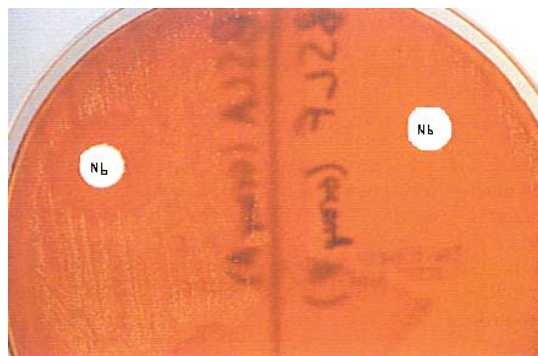
POSITIVO

El *S. aureus* a diferencia de *S. epidermidis* y otras especies coagulasa-negativas, es capaz de fermentar el manitol. El medio utilizado es **agar manitol con sal**. Este medio contiene manitol (1%), CNA al 7,5%, rojo de fenol y peptonas. La alta concentración de sales inhiben el desarrollo de otros microorganismos (excepto enterococos) y la positividad de la prueba se manifiesta mediante un viraje de color del rojo al amarillo, lo que indica la producción de ácido a partir del manitol. Existen otras especies de estafilococos que también pueden producir fermentación del manitol pero este resultado puede ser controlado mediante la producción de coagulasa.

6.1.1.3. IDENTIFICACIÓN DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVOS

En los humanos el *S. epidermidis* y *S. saprofiticus* son los estafilococos coagulasa-negativos aislados con frecuencia en los laboratorios clínicos.

6.1.1.3.a. Susceptibilidad a la Novobiocina.



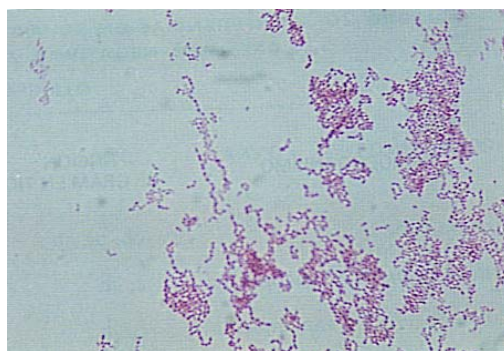
El método más útil en los laboratorios para la identificación de *S. saprofiticus* y *S. epidermidis*, es la prueba de sensibilidad a la Novobiocina, ya que el *S. saprofiticus* es resistente con CIM de 1,6 ug/mL o mayores; mientras que el *S. epidermidis* es sensible. La prueba se realiza como una prueba de sensibilidad con discos, utilizando un disco de Novobiocina (5 ug). Las cepas resistentes presentan halos de 6 mm (ausencia de halos) a 12 mm; mientras que las cepas susceptibles presentan halos de 16 a 27 mm.

6.1.1.3.b. Sistemas de identificación comerciales

Actualmente se dispone de varios equipos comerciales para la identificación de estafilococos coagulasa-negativos. Todos estos equipos utilizan pruebas de fermentación de hidratos de carbono modificadas y están adaptados al formato particular de cada fabricante (tiras con pequeñas cúpulas, placas de microtitulación, tarjetas plásticas, etc.). Entre los sistemas de identificación comerciales más utilizados se encuentran: *API Staph-IDENT*, *API STPH*, *IDE32 Staph*, *Staf-Sistem 18-R*, *Staph-ZYM* (**Anexo N° 3, Fig. 2**).

6.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

6.1.2.a. Frotis directos teñidos con Gram

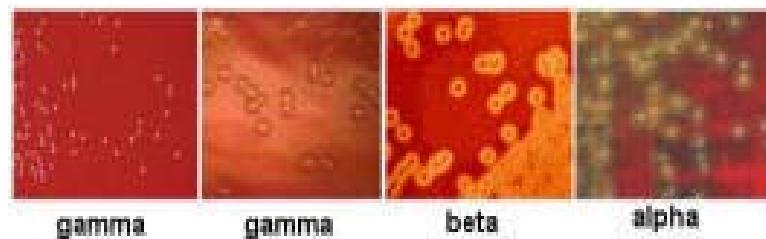


Los frotis de muestras clínicas teñidos con Gram, que ponen en evidencia la presencia de estreptococos por cultivo, presentan cocos grampositivos o gramvariables dispuestos en pares y cadenas. Los *S. viridans* presentan células alargadas mientras que *S. pneumoniae* se presenta con mayor

frecuencia en forma de pares de células lanceoladas (**Anexo N° 4. Fig. 1 y 2**)

6.1.2.b. Hemólisis en agar sangre

Los estreptococos pueden producir en agar sangre de carnero cuatro tipos de hemólisis (**Anexo N° 5., Fig. 1, 2 y 3. Cuadro N° 1**).



6.1.2.c. Morfología de las colonias y prueba de catalasa

Después de 18 a 24 horas de incubación en agar sangre, las colonias de *estreptococos grupo A* tienen aproximadamente 0,5 mm de diámetro, son translúcidas o transparente, y tienen una superficie lisa o mate (**Anexo N° 6, Fig. 1**). El diámetro de β -hemólisis es habitualmente igual 2 a 4 veces al diámetro de la colonia. Las colonias son convexas y con bordes enteros. Los *grupos C y G* tienen un aspecto similar, aunque las colonias de algunas cepas del grupo G pueden tener un tinte dorado cuando se las examina de cerca y, en general, los halos de hemólisis son muy grandes. Los *estreptococos grupo B* forman colonias más grandes en medios sólidos, el halo de hemólisis es comparativamente menor para los estreptococos grupo B que para los demás estreptococos beta hemolíticos, y la hemólisis es en general “mas débil” y menos evidente (**Anexo N° 6, Fig. 2**). Una proporción importante de estreptococos grupo B (hasta 11%) puede ser no hemolítica. Las colonias de *estreptococos grupo D* tienden a ser más grandes que las del grupo A: 0.5 a 1.0 mm después de una noche de incubación. Los aislamientos grupo D son alfa hemolíticos o no hemolíticos en agar sangre de carnero. Las colonias son habitualmente grises, lisas con bordes enteros. Los

estreptococos grupo F forman colonias muy pequeñas, en punta de alfiler, con un gran halo de β -hemólisis. Estas colonias extremadamente pequeñas y con β -hemólisis bastante grande y evidente, se denominan “colonias diminutas” y son características del grupo de *S. milleri*. Los microorganismos del grupo *S. milleri* que se desarrollan en medios sólidos también tienen un olor característico dulce, a caramelo (“azúcar con manteca”) o a madreselva, debido a la producción de diacetilo.

El *S. pneumoniae* presenta diferentes tipos de colonias, cuyo aspecto depende del grado de capsulación. Estas colonias se encuentran rodeadas por un halo de α -hemólisis intensa verde. Las colonias de cepas con grandes cápsulas pueden tener varios milímetros de diámetro, son muy mucoides, de aspecto grisáceo, y pueden parecerse a gotas de aceite sobre la superficie del agar (**Anexo N° 6, Fig 3**). Por incubación prolongada, la zona central o en la totalidad de la colonia puede colapsarse y adoptar una forma de “ficha de damas” o tachuela sobre el agar (**Anexo N° 8, Fig. 4**).

Los miembros de los grupos bacterianos de estreptococos y de las bacterias similares a estreptococos son **catalasa negativos**, excepto *Alloiococcus otitis*. Algunas cepas de enterococos (*E. faecalis*) producen una “seudocatalasa”, produciendo una débil reacción positiva para catalasa.

6.1.3. Identificación presuntiva de Estreptococos

Los estreptococos betahemolíticos, los neumococos, los estreptococos grupo D y los enterococos se identifican en forma definitiva utilizando procedimientos serológicos que detectan los antígenos de grupo de Lancefield (grupos A, B, C, D, F y G) o los antígenos del polisacárido capsular (*S. pneumoniae*) de los microorganismos. La diferenciación de especies de estreptococos grupo D, especies de enterococos y de los estreptococos viridans se lleva a cabo mediante pruebas bioquímicas,

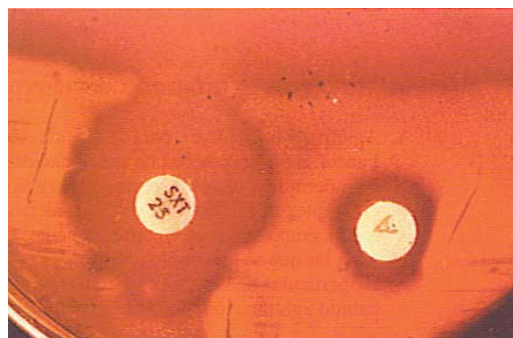
fisiológicas y enzimáticas. Sin embargo, muchos laboratorios utilizan un puñado de pruebas presuntivas que tienen alta correlación con los métodos serológicos y son de realización menos costosa (**Cuadro N° 2 y 3**).

6.1.3.a. Sensibilidad a la bacitracina



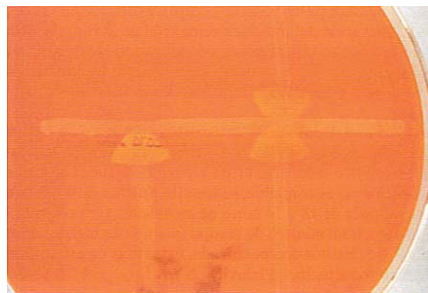
La prueba de sensibilidad a la bacitracina se utiliza para la identificación presuntiva de los estreptococos betahemolíticos grupo A. Se realiza en una placa de agar sangre con un disco de bacitracina en el centro. Un halo de inhibición de cualquier tamaño alrededor del disco se considera una prueba positiva. Aunque esta prueba es sencilla, barata y bastante precisa para la identificación de estreptococos grupo A, no es altamente específica, ya que hasta un 10% de estreptococos grupos C y G también son susceptibles a la bacitracina, así como un 5% de cepas del grupo B. Por tanto, esta prueba debe ser realizada con frecuencia junto con la prueba de susceptibilidad a la trimetropima-sulfametoxazol (TMS) debido a que los estreptococos grupos C y G son sensibles a esta combinación y los del grupo A y B son resistentes.

6.1.3.b. Sensibilidad a la trimetropima-sulfametoxazol



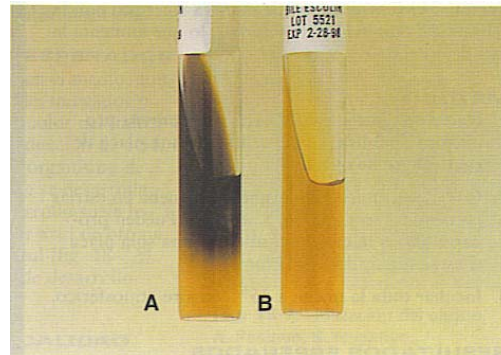
La prueba TMS diferencia los estreptococos de los grupos A y B de otros estreptococos betahemolíticos. Cuando se utiliza junto con la prueba de bacitracina, ayuda a descartar los estreptococos no A, no B que pueden ser sensibles a la bacitracina, debido a que tanto las cepas grupo A como la grupo B son resistentes a TMS, mientras que los grupos C y G son sensibles. La prueba se realiza de la misma manera que la de bacitracina, salvo que se usa un disco comercial que contiene 1,25 ug de trimetropima y 23,75 ug de sulfametoxazol. Un halo de inhibición de cualquier tamaño indica sensibilidad a TMS.

6.1.3.c. Prueba de CAMP y producción de pigmento



La prueba de CAMP (así denominada por Christie, Atkins y Munch-Petersen) se utiliza para identificar presuntamente estreptococos grupo B y se realiza utilizando una cepa de *S. aureus* productora de β -hemolisina (ATCC #25923). Los estreptococos grupo B secretan una proteína denominada “factor CAMP” que interactúa con la β -hemolisina producida y secretada por *S. aureus*, lo que produce aumento o sinergia de la hemólisis. Esta sinergia aparece como una zona en forma de punta de flecha de mayor hemólisis en la zona en la que se encuentran más próximas las estrías de desarrollo. Esta prueba es muy sensible e incluso pueden ser positivas las cepas no hemolíticas de estreptococos grupo B. Un pequeño porcentaje de estreptococos grupo A también puede ser CAMP positivo, así como algunas cepas de *Listeria monocytogenes*. Esta prueba debe realizarse junto con las de bacitracina y TMS en la misma placa de agar sangre, para identificar presuntivamente estos microorganismos.

6.1.3.d. Prueba de bilis-esculina

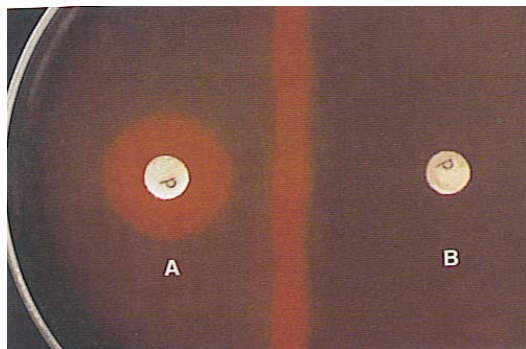


A. Positivo

B. Negativo

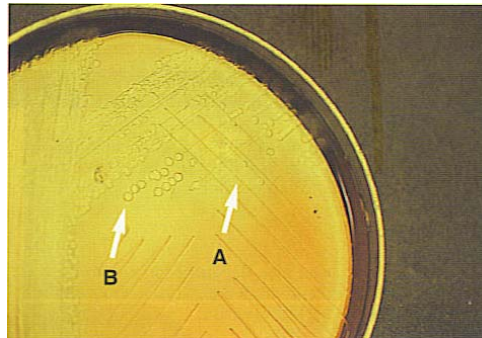
Esta prueba se utiliza para la identificación presuntiva de especies de *Enterococos* y estreptococos grupo D (*S. bovis* y *S. equinus*). Se realiza en un pico de flauta o en placa. Los microorganismos bilis-esculina positivos son capaces de desarrollarse en 40% de bilis y de hidrolizar la esculina. La mayoría de las especies de *Enterococos* y los estreptococos grupo D ennegrecen el medio en el término de 24 horas.

6.1.3.e. Sensibilidad a la optoquina



La sensibilidad a la optoquina (clorhidrato de etil hidrocupreína) se utiliza para diferenciar *S. pneumoniae* de otros estreptococos viridans. Como las pruebas de bacitracina y de TMS, esta se realiza en agar sangre. Sin embargo, a diferencia de las otras dos, deben medirse los halos de inhibición. Un halo de 14 mm o más alrededor del disco de 6 mm indica sensibilidad a la optoquina e identifica al microorganismo como un *neumococo*. Si el halo es menor de 14 mm debe realizarse una prueba de identificación alternativa (serología o solubilidad en bilis).

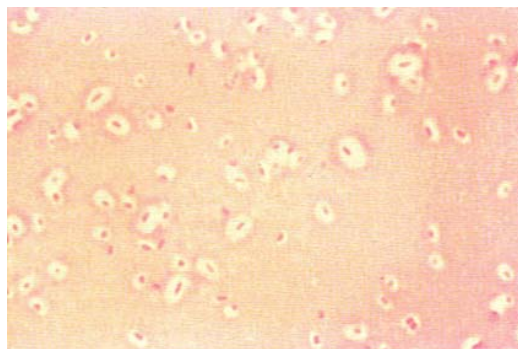
6.1.3.f. Prueba de solubilidad en bilis



A: colonia lisada B colonia intacta

La prueba de solubilidad en bilis diferencia *Streptococcus pneumoniae* (positivo) de estreptococos alfa hemolíticos (negativo). La bilis o una solución de sal biliar, como el desoxicolato de sodio, lisan con rapidez las colonias de neumococo. La lisis depende de la presencia de una enzima autolítica intracelular. Las sales biliares disminuyen la tensión superficial entre la membrana de la célula bacteriana y el medio; así se acelera el proceso autolítico natural del microorganismo.

6.1.3.g. Pruebas serológicas para identificación de *Streptococcus pneumoniae* (Prueba de Quellung)



La prueba de Quellung puede emplear una mezcla de sueros, así como sueros específicos de tipo. Se prepara una suspensión poco densa de microorganismos en solución fisiológica y una ansada de esta suspensión se mezcla con una ansada de antisueros y una ansada de azul de metileno sobre un portaobjetos, se aplica un cubreobjetos y se incuba a

temperatura ambiente por 10 minutos. Luego se examina con objetivo seco y con objetivo de inmersión con luz atenuada. Como consecuencia de la reacción de microprecipitación a nivel de la superficie del microorganismo, el índice de refracción de la cápsula varía y adopta un aspecto “hinchado”, más visible, en forma de halo alrededor de las bacterias teñidas de azul. Los resultados del Quellung deben compararse microscópicamente con preparados similares con solución fisiológica en lugar de antisueros.

6.2. IDENTIFICACIÓN DE BACILOS GRAMNEGATIVOS FERMENTADORES (ENTEROBACTERIACEAE)

Los bacilos Gramnegativos pertenecientes a *Enterobacteriaceae* son los aislamientos bacterianos recuperados con más frecuencia de muestras clínicas. Distribuidos ampliamente en la naturaleza, estos microorganismos se encuentran en el suelo y el agua, sobre las plantas, y como lo indica el nombre de la familia, dentro del tracto intestinal de seres humanos y animales. Los miembros de la familia Enterobacteriaceae pueden ser incriminados en cualquier tipo de enfermedad infecciosa desde síndromes diarreicos (*Salmonella* y *Shigella*), casos clásicos de neumonía (*Klebsiella pneumoniae*), hasta infecciones de heridas traumáticas, contaminadas o incisiones abdominales luego de una cirugía gastrointestinal (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, etc.).

6.2.1 Identificación presuntiva de Enterobacteriaceae

6.2.1.a. Tinción de Gram.

En muestras que no sean heces, una preparación teñida con Gram puede revelar células bacilares y cocobacilares gramnegativas cortas y gordas, cuyo tamaño varía de 0.5 a 2 μm de ancho y de 2 a 4 μm de largo. Sin embargo la diferenciación de especies no puede hacerse sobre la única base de morfología con la tinción de Gram. (**Anexo N° 7, Fig 1, y 2**).

6.2.1.b. Características morfológicas de las colonias

Típicamente, los miembros de *Enterobacteriaceae* producen colonias mucoides o secas relativamente grandes, de color gris opaco, en agar sangre; éste último sugiere cepas de *K. Pneumoniae*. La hemólisis en agar sangre es variable y no es definitivamente. Algunas colonias aparecen como una película delgada o una onda (fenómeno de dispersión o “swarming”), lo que revela que se trata de un microorganismo móvil, probablemente una especie *Proteus* (**Anexo N° 8, Fig. 1**).

En agar *MackConkey* las colonias de especies capaces de fermentar lactosa producirán un cambio en el pH del medio por liberación de productos ácidos. Como consecuencia sus colonias aparecerán de color fucsia/violeta, contrastando con la coloración amarillenta de las colonias incapaces de fermentar la lactosa (**Anexo N° 8, Fig. 2**).

Sobre agar eosina azul de metileno (EMB) las colonias tienen brillo verde metálico (*E. coli*), lo cual indica que el microorganismo es capaz de formar ácido a partir de la lactosa presente en el medio (**Anexo N° 8, Fig. 3**).

6.2.2. Identificación bioquímica

En la identificación definitiva de los miembros de *Enterobacteriaceae* se requiere de una batería de pruebas bioquímicas (**Cuadro N° 4**). Estas pruebas se realizan con el objetivo de diferenciar las especies y subespecies en base a sus características bioquímicas como fermentación de azúcares, producción de ácido, producción de gas, descarboxilación de la lisina (LIA), utilización de la urea, motilidad, etc.

Entre las pruebas bioquímicas que en la práctica son utilizadas para la diferenciación de *Enterobacteriaceae*: TSI y Kliger, Citrato, Malonato, MIO y SIM, Lisina, Arginina, Fenilalanina, Urea y MRVP.

6.2.2.1. Agar hierro de Kliegler y agar hierro triple azúcar

El agar triple azúcar (TSI) y el agar Kliegler (KIA) son medios de diferenciación complejos (de color rojo) compuesto por azúcares: *lactosa*, *glucosa* (y *sacarosa* en TSI). Además poseen un ligador, que es en este caso el hierro. Si la bacteria metaboliza sólo la glucosa: en la superficie la utilizará por vía respiratoria, y donde la tensión de oxígeno disminuya lo suficiente, empleará una pequeña proporción por vía fermentativa. Esto generará una pequeña cantidad de ácidos que serán neutralizados por las aminas derivadas de la descarboxilación oxidativa de las proteínas. Como resultado, el medio mantendrá su color rojo en la superficie, al no haber cambiado de pH.

Por el contrario, las bacterias crecidas en la profundidad emplearán desde el primer momento la glucosa por vía fermentativa, generando ácidos que no serán neutralizados, provocándose un descenso del pH y el color del medio en el fondo del tubo cambiará a amarillo (A/A). Si la bacteria, además fermenta lactosa: los ácidos producidos modificarán también el pH de la superficie del medio. Las aminas no son capaces de neutralizar la cantidad de ácidos producidos en esta fermentación, ya que la lactosa se encuentra en el medio a mayor concentración que la glucosa, el color del medio en la superficie cambiará a amarillo.

Si la bacteria es aerobia estricta (no fermentadora), el medio permanece de color rojo (K/K), los azúcares son respirados, degradándose completamente hasta CO₂, que se elimina y no modifica el pH. La aparición de burbujas, rotura o elevación del agar del fondo del tubo indicara producción de gas (A/Ag). Algunas bacterias respiradoras anoxobióticas son capaces de emplear el tiosulfato sódico como aceptor final de electrones en la cadena transportadora. Este compuesto se reduce a ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro Fe²⁺ presente en el medio formando un precipitado negro de sulfuro de hierro K/A(H₂S). La sensibilidad de la detección de SH₂ varía con el tipo de indicador usado,

por ejemplo el medio de SIM es más sensible que el de KIA y este es más sensible que el TSI (**Anexo N° 9, Fig. 1**).

Procedimiento:

1- La siembra se realiza tanto en el fondo del agar (aerobiosis) mediante picadura, como en la superficie de este (anaerobiosis) en forma de zig-zag.

2- Incubar a 35-37°C por 24 horas.

Los resultados se pueden interpretar de la siguiente manera:

- El cambio de rojo a amarillo en el fondo del tubo significa fermentación de dextrosa (glucosa) K/A.
- El cambio de color en todo el tubo demuestra la fermentación de los tres azúcares A/A.
- El gas se detecta por espacios o grietas en el agar.
- El SH₂ se reconoce por el precipitado negro.



6.2.2.2. Agar Simmons Citrato

Éste medio indica la capacidad de las bacterias de metabolizar el citrato. Contiene citrato como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de fosfato y azul de bromotimol como indicador de pH. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar citrato podrán multiplicarse en este medio, al utilizar los fosfatos presentes liberan iones amonio (básicos) que junto con la eliminación de citrato (ácido) generará una fuerte *basificación del medio* que será aparente con un cambio de color del indicador de pH de verde (pH 6.9) a azul (pH 7.6).

Procedimiento:

- 1- Sembrar la bacteria a examinarse en la parte media del cultivo.
- 2- Incubar 24 horas a 35°C.

**6.2.2.3. Medio Malonato Broth**

Ciertas bacterias pueden utilizar malonato sódico como la única fuente de carbono, con la producción de alcalinidad. El indicador azul de bromotimol a un pH 6.7 es de color verde (medio sin inocular) y a un pH 7.6 cambia a un color azul Prusia (**Anexo N° 9, Fig. 2**).

Procedimiento:

- 1- Sembrar la bacteria en 1 ml del medio de cultivo malonato broth.
- 2- Incubar 24 horas a 35°C.

6.2.2.4. Medio MRVP (rojo metilo Voges-Proskauer)**6.2.2.4.a Prueba de Rojo de Metilo**

El rojo de metilo es un indicador de pH (rojo-ácido; amarillo-alcalino) que permite identificar la concentración de iones hidrógeno presentes cuando un microorganismo fermenta la glucosa. Las bacterias rojo de metilo (+) fermentan la glucosa con producción de ácidos estables: láctico, succínico, fórmico o acético manteniendo una alta concentración de iones hidrógeno (pH 4.2 o menos).

Disuelva el colorante en el alcohol, luego añada el agua destilada.

Procedimiento:

- 1- Sembrar la bacteria a examinarse en 0.5 ml de MRVP.
- 2- Incubar a 35°C por 24-48 horas.
- 3- Añadir 5 a 6 gotas de rojo de metilo.
- 4- Lea inmediatamente.

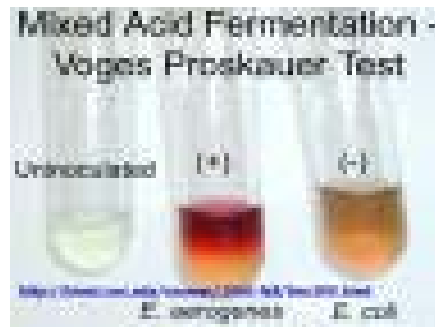
**6.2.2.4.b. Prueba de Voges-Proskauer**

Esta prueba se utiliza para detectar la habilidad de ciertas bacterias de producir acetoina (un producto final, neutral) a partir de la fermentación de la glucosa. La glucosa es metabolizada a ácido pirúvico, un producto intermedio, clave en la glicólisis; a partir de ácido pirúvico, las bacterias toman diferentes vías de degradación de la glucosa y la producción de acetoina (acetil-metil-carbinol) puede ser una vía. En la presencia de oxígeno atmosférico y un álcalis (KOH) la acetoina es oxidada a diacetilo, el cual, produce el color rojo característico de la prueba (+) de Voges-Proskauer. El alfa naftol que también se añade al realizar la prueba sirve de catalizador en la oxidación de acetoina a diacetilo.

Procedimiento:

- 1- Siembre la bacteria a examinarse en 1 ml del medio MRVP.
- 2- Incube 24-48 horas a 35°C.
- 3- Añada 0.6 ml de alfa naftol y luego 0.2 ml de KOH 40%.
- 4- Mueva suavemente el tubo y esponga el medio a O₂ atmosférico ara que se produzca la oxidación de la acetoina y así observar el color de la reacción (+).

5- Se debe dejar 10-15 minutos antes de interpretar el resultado.



6.2.2.5. Prueba de Indol.

El indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa pueden oxidar el triptófano y producir indol, ácido pirúvico y amonio. La presencia de Indol se puede detectar por la formación de un anillo rojo en la superficie del medio de color rojo después de agregar una solución que contiene para-dimetil-amino-benzaldehído (Reactivo de Ehrlich o Kovac) al cultivo de bacterias (**Anexo N° 9, Fig. 3**).

Procedimiento

- 1- Sembrar la bacteria a examinarse en el medio de cultivo por 24 horas e incubar a 35°C.
- 2- Añadir 0.5 ml de Reactivo de Ehrlich o Kovac.
- 3- Observar los resultados.

6.2.2.6. Motilidad

Otra característica importante en la identificación final de especies es la motilidad. La presencia de flagelos hace que una bacteria sea motil. Existen coloraciones especiales que permiten observar estos flagelos, sin embargo en la rutina se siembra la bacteria en un medio semisólido o se la observa en suspensión al microscopio con lente de 40x. En el medio semisólido si la bacteria solo crece en el lugar de inoculación la bacteria es no motil, pero si se extiende hacia los lados y superficie, la bacteria será motil. En suspensión cuando la bacteria es no motil solo sigue el

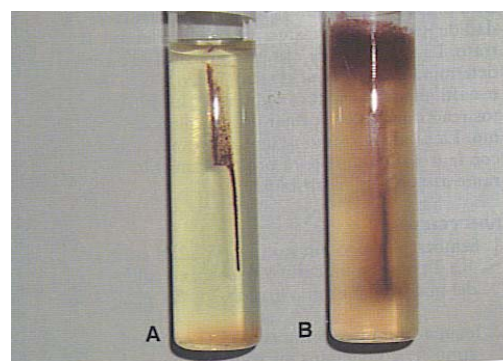
movimiento browniano, más si es motil se mueve a todos lados. Las combinaciones de medios, como medio SIM (sulfuro-indol-motilidad) o agar MIO (motilidad-indol-ornitina) han encontrado amplio uso en los laboratorios de microbiología clínica porque se puede medir más de una característica en el mismo tubo.

Procedimiento

- 1- Sembrar la bacteria a examinarse por picadura (asa recta) en el medio.
- 2- Incubar 24 horas a 35°C.

Positivo, crecimiento extendido, el medio se vuelve turbio.

Negativo, crecimiento únicamente en el sitio de inoculación.



Negativo

Positivo

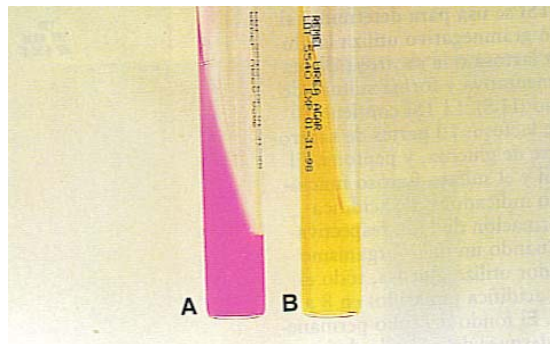
6.2.2.7. Descarboxilasas de Aminoácidos (*Arginina, Lisina, Ornitina*).

Muchas especies de bacterias poseen enzimas que pueden descarboxilar aminoácidos específicos en el medio de prueba. Los aminoácidos al perder el grupo carboxilo se convierten en aminas lo que incrementa el pH del medio y el indicador (púrpura del bromocresol) vira a violeta. Las bacterias se inoculan en medios complejos que contienen lisina, ornitina o arginina al 1% y un indicador de pH, como el púrpura de bromocresol. Las pruebas de lisina son útiles para diferenciar especies de *Citrobacter* lactosa negativo (0% positivas) de especies de *Salmonella* (98% positivas) (**Anexo N° 9, Fig. 4**). La prueba de ornitina permite

diferenciar especies de *Klebsiella* (la mayoría negativas) de especies de *Enterobacteriaceae* (la mayoría positivas).

6.2.2.8. Hidrólisis de Urea

Los microorganismos que poseen la enzima ureasa hidrolizan la urea, con lo cual se libera amonio y se produce un cambio de color rosado-rojo en el medio. Entre las *Enterobacteriaceae* que producen mayor cantidad de urea se encuentran las especies de *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Brucella* y *Bordetella*, son especies que no producen urea o lo hacen en menor cantidad.



A. Positivo B. Negativo

6.2.2.9. Agar Fenilalanina

En este medio, el aminoácido presente es la Fenilalanina, empleado para determinar la presencia de la enzima Fenilalanina-desaminasa en bacterias. La acción de esta enzima se evidencia por la aparición en el medio del producto resultado (ácido fenilpirúvico) que se detecta mediante adición de cloruro férrico, resultando un compuesto de coloración verde oscuro (**Anexo 9, Fig. 5**).

6.3. IDENTIFICACION DE BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES

Los bacilos gramnegativos no fermentadores son un grupo de microorganismos aerobios, no esporulados, que o bien no utilizan hidratos de carbono como fuente de energía o los degradan a través de vías metabólicas diferentes de la fermentación. Entre los géneros no

fermentadores de importancia clínica se encuentran: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomona* y muchos otros microorganismos no patógenos para el hombre. (**Cuadro N° 5**).

6.3.1. Morfología de colonias

Puede sospecharse que un bacilo gramnegativo que se desarrolla en agar sangre pero poco o nada en agar *MacConkey* pertenece al grupo de no fermentadores. Sin embargo, esta característica esta lejos de ser absoluta, debido a que muchos de los bacilos gramnegativos con requerimientos especiales de cultivo tampoco se desarrollan en agar *MacConkey*. La capacidad de las bacterias para crecer en agar de *MacConkey* se determina por inspección de luz refleja de la muestra de las placas sembradas e incubadas durante 24 a 48 horas. Los microorganismos que se desarrollan bien producen colonias de 3 mm o más de diámetro, fácilmente visibles (**Anexo N° 10, Fig. 1 y 2**). Las cepas de poco desarrollo producen colonias dispersas, pequeñas, en punta de alfiler (**Anexo N° 10, Fig. 3**).

6.3.2. Pruebas utilizadas para la identificación de no fermentadores

6.3.2.a. Medios para oxidación/fermentación (OF).

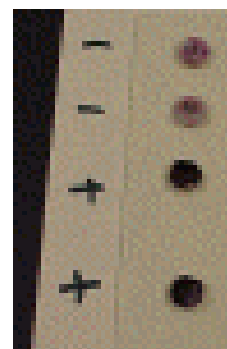
Esta prueba se usa para determinar si un microorganismo emplea hidratos de carbono como sustrato para producir subproductos ácidos. Las bacterias no fermentativas se prueban de rutina para determinar su capacidad para producir ácido a partir de seis hidratos de carbono (glucosa, xilosa, manitol, lactosa, sacarosa y maltosa).

Los ácidos producidos por los no fermentadoras son considerablemente más débiles que los ácidos mixtos derivados de las bacterias fermentadoras; por tanto, el pH de un medio para bacterias fermentadoras en el cual se desarrolla un no fermentador puede no caer lo suficiente como para hacer virar el indicador de pH. El indicio inicial de

que un microorganismo es un no fermentador por lo general es la falta de producción de ácido en medio KIA o TSI, que se manifiesta en ambos casos como un pico de flauta alcalino (rojo) una siembra en profundidad alcalina (K/K).

6.3.2.b. Reacción de citocromo oxidasa

Puede sospecharse que toda colonia de un bacilo que se desarrolla en agar sangre u otro medio de aislamiento que sea citocromo oxidasa positivo pertenece al grupo de no fermentadores. Sin embargo, no todos los bacilos gramnegativos oxidasa positivos son no fermentadores. Este demuestra la importancia de sembrar en un tubo de TSI o KIA para así determinar la forma de utilización de glucosa. Para determinar la actividad oxidasa de los no fermentadores se utiliza una solución acuosa al 0.5% de clorhidrato de tetrametil-*p*-fenilendiamina, con el cual se cubre con unas gotas el medio sólido donde se encuentra el desarrollo bacteriano. El viraje de color azul en el termino de unos pocos segundos indica una reacción positiva. Las negativas pueden confirmarse utilizando el método de Kovac, mas sensible, en el cual se mezcla una ansada de microorganismo con unas gotas de reactivo sobre un papel filtro. El desarrollo de un color azul oscuro dentro de 10 segundos es un resultado positivo de la prueba.



6.3.2.c. Motilidad

Los medios semisólidos para la detección de la motilidad de microorganismos fermentadores pueden ser no adecuados para las

especies no fermentadoras que solo se desarrollan en la superficie del agar. Si se utiliza un medio semisólido con agar para bacilos no fermentadores, se debe sembrar por punción solo los 4 mm superiores del medio y hacer las lecturas a las 4 – 6 horas.

6.3.2.d. Sistemas comerciales de identificación (sistemas API)

Los sistemas API que fueron diseñados originalmente para la identificación de las *Enterobacteriaceae*, han sido ampliados para incluir también la identificación de bacilos no fermentadores. Con este propósito se han agregado seis pruebas adicionales para generar un número de perfil de nueve dígitos. Estudios realizados con no fermentadores demuestran que el sistema API identifica *P. aeruginosa* y especies de *Acinetobacter* con una precisión de hasta 99% (**Anexo N° 10, Fig. 4**).

6.4. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ANAEROBIAS

Las bacterias anaerobias obligadas son aquellas que se desarrollan en ausencia de oxígeno libre pero no pueden multiplicarse en presencia de oxígeno en la superficie de un medio sólido nutricionalmente adecuado, incubado en presencia de aire ambiental o en una estufa de CO₂ (con 5 al 10%).

Las bacterias anaerobias están ampliamente distribuidas en el suelo, pantanos, lagos y sedimentos de ríos, océanos, aguas cloacales, alimentos y animales. En los seres humanos, las bacterias anaerobias predominan en la cavidad oral, tracto gastrointestinal, en especial en el colon, orificios del tracto genitourinario y sobre la piel. En la actualidad el 85% de los anaerobios aislados a partir de muestras clínicas seleccionadas son especies de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* y bacilos gramnegativos no esporulados. Estos microorganismos están involucrados en infecciones como endocarditis, neumonía necrosante, absceso cerebral, absceso de

tejidos blandos, heridas quirúrgicas, infecciones abdominales, infecciones de huesos (*osteomilitis*) y articulaciones, bacteriemia, etc. (**Anexo N° 11, Fig. 1**)

Las infecciones por anaerobios en el hombre puede involucrar cualquier órgano cuando las condiciones son las adecuadas. La mayor parte de los abscesos de localización profunda y las lesiones necrosantes que involucran anaerobios son polimicrobianas que pueden incluir aerobios obligados, anaerobios facultativos y microaerófilos como microorganismos contaminantes. Estos microorganismos cuando actúan en asociación con traumatismos, estasis vascular o necrosis tisular, disminuyen la tensión del oxígeno de los tejidos, proporcionando las condiciones favorables para la multiplicación de los anaerobios obligados.

6.4.1. Examen directo de muestras clínicas

El examen directo macroscópico de los materiales es de particular valor para considerar la posibilidad de la presencia de anaerobios. Un olor fétido, el aspecto purulento de las muestras líquidas y la presencia de tejido necrótico y gas o gránulos de azufre son todos indicios de valor. En las tinciones con Gram deben observarse el fondo y las características del frotis, el tamaño, la forma y disposición de las bacterias. Debe destacarse la presencia de esporas, su forma y posición en la célula bacteriana y otras características morfológicas distintivas, como ramificación, extremos aguzados y formas granulares. Las coloraciones con naranja de acridina son de mayor valor para detectar bacterias en hemocultivos, LCR, líquido pleural, líquido articular y exudados.

6.4.2. Selección y uso de medios de cultivo

Los medios utilizados para la recuperación de anaerobios a partir de materiales clínicos deben incluir los selectivos y enriquecidos. Entre los medios representativos primarios para el aislamiento de anaerobios se encuentra el tioglicolato enriquecido (THIO), agar sangre alcohol

feniletílico (PEA) o en su lugar agar colistín-ácido nalidíxico (CNA), agar sangre con kanamicina-vancomicina (KV).

6.4.3. Incubación de los cultivos y observación de colonias.

La temperatura óptima para el aislamiento primario de bacterias anaerobias a partir de muestras clínicas es de 35 a 37 °C. Las placas, sembradas y colocadas en jarras para anaerobios, deben incubarse por lo menos 48 horas y reincubarse otros 2 a 4 días para permitir que los microorganismos de crecimiento lento formen colonias (especies de *Actinomyces* y *Eubacterium*). Si la jarra se abre demasiado rápido, algunos de los microorganismos de crecimiento lento pueden morir por exposición al oxígeno. Ciertos anaerobios que se encuentran habitualmente en muestras clínicas como *Peptostreptococcus anaerobius* pueden no desarrollarse o hacerlo con retraso cuando las placas recién sembradas se mantienen en contacto con el aire tan solo durante 2 horas.

Después de la incubación, las placas extraídas de una atmósfera de 5% a 10 % de CO₂ se examinan con una lupa o un microscopio de disección. Cuando se examinen las colonias deben registrarse cualquier efecto que se produzca en el medio, como hemólisis en agar sangre, aclaramiento del medio, tamaño y características diferenciales de las colonias.

También deben observarse frotis teñidos con Gram de los frotis provenientes de las placas incubadas en anaerobiosis y CO₂. Basándose en las características de la colonia y su aspecto microscópico no debe asumirse que las colonias que se desarrollan en placas incubadas en anaerobiosis, están constituidos por anaerobios obligados. Aunque la morfología y características de la colonia de ciertos anaerobios son distintivas, con frecuencia es imposible distinguir algunos anaerobios facultativos de los obligados sin realizar pruebas de aerotolerancia aun cuando las placas incubadas en CO₂ no muestren desarrollo. La **prueba de aerotolerancia** consiste en que a cada tipo de colonia procedente del

aislamiento de anaerobiosis, se la cultiva en una placa de agar sangre en aerobiosis (5 a 10 % de CO₂ o jarra con vela) y en una placa de agar sangre en aerobiosis durante una noche (**Anexo N° 12, Fig. 1**).

6.4.3.a. Jarras para anaerobiosis

El principio básico de las jarras es la eliminación de oxígeno de la cámara por reacción con el hidrogeno agregado al sistema en presencia de un catalizador donde finalmente el oxígeno es reducido a agua



6.5. IDENTIFICACION DE HONGOS

Antes del procesamiento de las muestras clínicas destinadas a análisis micótico, el medico de atención primaria tiene la responsabilidad de controlar que las muestras sean recolectadas de manera correcta y se transporten en condiciones optimas al laboratorio sin retrasos. Los pacientes inmunosuprimidos y en ocasiones aquellos sometidos a tratamientos con corticosteroides o agentes citotóxicos tienen un riesgo mayor de adquirir infecciones micóticas.

Las infecciones micóticas *profundas* o *sistémicas* son las responsables de causar las patologías en las cavidades del cuerpo humano, ya que son

producidas por agentes que intrínsecamente pueden ser muy virulentos y tienen la capacidad de invadir con profundidad los tejidos y órganos y de diseminarse con amplitud por todo el organismo. La mayoría de estas infecciones son producidas por hongos dimórficos; es decir, las especies que existen en formas filamentosas en el ambiente, pero como formas levaduriformes cuando se incuban entre 35° y 37°C (temperatura corporal). Entre los grupos de hongos considerados clásicamente como oportunistas se encuentran las especies de *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Cryptococcus* y *Candida*, que es la especie de levadura cultivada con mayor frecuencia a partir de muestras clínicas y por tanto los estudios iniciales de laboratorio deben estar dirigidos a su identificación antes de realizar pruebas costosas adicionales (**Anexo N° 13, Fig. 1 y 2**).



Candida albicans

6.5.1. Identificación de levaduras

6.5.1.a. Prueba del tubo germinal

Un tubo germinal se define como una extensión filamentososa de una levadura que tiene un ancho de alrededor de la mitad y una longitud de tres a cuatro veces el diámetro de la célula madre. En la identificación de agentes micóticos causantes de infecciones sistémicas, se utiliza esta prueba para diferenciar las especies de *Candida albicans* de las especies de *Candida* no *albicans* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, entre las más comunes)

La prueba consiste en suspender una pequeña porción de una colonia aislada de la levadura a investigar en un tubo de ensayo con 0,5 mL de

suero o plasma de conejo o humano e incubarlo a 35°C por no mas de 2 horas, luego se coloca una gota de la suspensión de levaduras en suero sobre un portaobjetos, se cubre con un cubreobjetos y se examina al microscopio en busca de tubos germinales. La prueba carece de validez si el examen se realiza después de transcurridas las 2 horas.



6.5.1.b. Identificación de *Cryptococcus neoformans*

Puede sospecharse que un aislamiento de levaduras es una especie de *Cryptococcus* cuando se observa una colonia mucoide en el medio de aislamiento primario (**Anexo 13, Fig. 3**). La formación de un filamento largo cuando se levanta la superficie de la colonia con un ansa es un indicio de la existencia de material capsular abundante. Puede hacerse un preparado de tinta china o nigrosina con una porción pequeña de colonia; la observación de células levaduriformes, de tamaño irregular, de 4 a 10 μm de diámetro, rodeadas de material capsular, es una evidencia de gran apoyo.

Si se sospecha de la presencia de una especie de *Cryptococcus* durante la identificación de una levadura desconocida, debe descartarse *C. neoformans* específicamente por medio de pruebas serológicas o bioquímicas, debido a su potencial patógeno para el hombre.

6.5.1.c. Sistemas comerciales para la identificación de levaduras

Las compañías comerciales han introducido diversos equipos para la identificación de levaduras. El sistema API 20C presenta un 95% de

concordancia con los métodos convencionales; el sistema Micro Drop, el 84% de concordancia, y el sistema Uni-Yeast-Tek, un 99% de concordancia. Estos tres sistemas se consideran los mas utilizados en la mayoría de los laboratorios de microbiología (4).

(4) Konemam, E., Allen, S., Diagnostico Microbiológico. 5^a Edición. Editorial Médica Panamericana. 2004.

VI. CONSTRUCCIÓN DE HIPOTESIS Y VARIABLES

HIPOTESIS GENERAL

La aplicación correcta de pruebas realizadas en el área de microbiología permitirá la identificación precisa de microorganismos aislados en cavidades cerradas de los pacientes atendidos en el Hospital General de las Fuerzas Armadas de la ciudad de Quito, con el uso de tecnologías innovadoras apropiadas y un diagnóstico oportuno para llegar a la recuperación total y el control de la enfermedad.

VARIABLES

Variable independiente

Aplicación correcta de pruebas realizadas en el área de microbiología.

Variable dependiente

Identificación de microorganismos aislados en cavidades cerradas.

HIPOTESIS ALTERNATIVA

El grado de infección está condicionado por la ubicación anatómica de la cavidad y la especie de patógeno que invada la misma mediante diferentes mecanismos de invasión y propiedades antigénicas.

VARIABLES

Variable independiente

Ubicación anatómica de la cavidad y la especie de patógeno que invada la misma.

Variable dependiente

Grado de infección

VII. CONCEPTUALIZACIÓN DE VARIABLES

HIPOTESIS GENERAL

Variable Independiente

La aplicación correcta de pruebas realizadas en el área de microbiología

Definición conceptual.- Conjunto de procedimientos manipulados de manera precisa e inequívoca que suelen realizarse en el laboratorio de microbiología con el objetivo de detectar, identificar o cuantificar la presencia de microorganismos. En la práctica medica moderna se utiliza para hallar o confirmar el diagnostico y ayudar en el control de la enfermedad.

Variable Dependiente

Identificación precisa de microorganismos aislados en cavidades cerradas

Definición conceptual.- Análisis de patógenos oportunistas (bacterias, virus, hongos y en ocasiones parásitos) recuperados de muestras clínicas que llegan al laboratorio de microbiología para definir mediante una serie de pruebas, el tipo de microorganismo invasor y el genero o especie al que pertenecen.

HIPOTESIS ALTERNATIVA

Variable independiente

Ubicación anatómica de la cavidad y la especie de patógeno que invada la misma.

Definición conceptual.-

Ubicación anatómica: Sitio o lugar del organismo donde se encuentra alguna cavidad, la misma que esta rodeada por órganos y sistemas que dan a cada cavidad su debida importancia.

Especie de patógeno: Microorganismos que pertenecen a determinado grupo taxonómico de acuerdo a las características similares que poseen entre si

Variable dependiente

Grado de infección

Definición conceptual.-

Estado de una enfermedad en la que se implica la presencia de un microorganismo en un huésped vivo. Este nivel se determina identificando si la respuesta se encuentra localizada en el sitio de la infección o se ha generalizado de manera sistémica.

VIII. OPERALIZACIÓN DE VARIABLES E HIPOTESIS

HIPOTESIS GENERAL

La aplicación correcta de pruebas realizadas en el área de microbiología permitirá la identificación precisa de microorganismos aislados en cavidades cerradas de los pacientes atendidos en el Hospital General de las Fuerzas Armadas de la ciudad de Quito, con el uso de tecnologías innovadoras apropiadas y un diagnóstico oportuno para llegar a la recuperación total y el control de la enfermedad.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES
<p>Variable independiente</p> <p>Aplicación correcta de pruebas realizadas en el área de microbiología.</p>	<p>Conjunto de procedimientos manipulados de manera precisa e inequívoca que suelen realizarse en el laboratorio de microbiología con el objetivo de detectar, identificar o cuantificar la presencia de microorganismos. En la práctica médica moderna se utiliza para hallar o confirmar el diagnóstico y ayudar en el control de la enfermedad.</p>	<p>- Procedimientos de laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Toma de muestra ❖ Tinción directa ❖ Siembras ❖ Cultivos ❖ Pruebas bioquímicas ❖ Pruebas serológicas
<p>Variable dependiente</p> <p>Identificación de microorganismos aislados en cavidades cerradas.</p>	<p>Análisis de patógenos oportunistas (bacterias, virus, hongos, parásitos, etc.) recuperados de muestras clínicas que llegan al laboratorio de microbiología para definir mediante una serie de pruebas, el tipo de microorganismo invasor y la especie al que pertenecen.</p>	<p>- Bacterias</p> <p>- Otros</p>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Grampositivos ❖ Gramnegativos ❖ Bacterias anaerobias ❖ Hongos ❖ Parásitos ❖ Virus

HIPOTESIS ALTERNATIVA

El grado de infección está condicionado por la ubicación anatómica de la cavidad y la especie de patógeno que invada la misma mediante diferentes mecanismos de invasión y propiedades antigénicas.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES
<p>Variable independiente</p> <p>Ubicación anatómica de la cavidad y la especie de patógeno que invada la misma.</p>	<p>Ubicación anatómica: Sitio o lugar del organismo donde se encuentra alguna cavidad, la misma que esta rodeada por órganos y sistemas que dan a cada cavidad su debida importancia.</p> <p>Especie de patógenos: Microorganismos que pertenecen a determinado grupo taxonómico de acuerdo a las características similares que poseen entre si</p>	<p>- Cavidades cerradas</p> <p>- Especies de patógenos</p>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Cavidad cerebral ❖ Cavidad torácica ❖ Cavidad abdominal ❖ Cavidad articular ❖ Enterobacteriaceae ❖ Bacilos no fermentadores ❖ Estafilococos ❖ Estreptococos ❖ Enterococos ❖ Bacilos anaerobios ❖ Cocos anaerobios ❖ Levaduras ❖ Parásitos ❖ Virus
<p>Variable dependiente</p> <p>Grado de infección</p>	<p>Estado de una enfermedad en la que se implica la presencia de un microorganismo en un huésped vivo. Este nivel se determina identificando si respuesta se encuentra localizada en el sitio de la infección o se ha generalizado causando patologías sistémicas.</p>	<p>- Patologías</p>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Encefalitis ❖ Meningitis ❖ Endocarditis ❖ Neumonía ❖ Pericarditis ❖ Peritonitis ❖ Artritis séptica

IX. METODOLOGÍA DE INVESTIGACION

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El método de investigación es el Cuasi-Experimental, porque se participara en el procesamiento de las muestras que son objeto de este estudio.

TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio escogido es el **Retrospectivo**, porque se tomaran datos de los archivos del laboratorio de los primeros 6 meses del periodo de la investigación y **Prospectivo** porque se obtendrá la información requerida en el momento de su procesamiento, durante los 6 meses restantes.

UNIVERSO Y POBLACIÓN

El universo escogido para la investigación es el Laboratorio de Microbiología del Hospital General de las Fuerzas Armadas.

La población estudiada son los pacientes atendidos en esta área. Abarca pacientes de consulta externa, emergencia y hospitalarios, específicamente aquellos con muestras de cavidades cerradas.

MUESTRA

Se trabajó con una muestra de 575 pacientes sin discriminar edad alguna. Este número es el total de todas las muestras de líquidos de cavidades cerradas que llegaron al laboratorio de microbiología durante todo el año 2006.

MÉTODOS

Los métodos aplicados en la investigación son el método **Inductivo** ya que se extraerá la información a partir de determinadas observaciones y experiencias en el campo laboral; y el método **Deductivo** porque se sacaran conclusiones de un principio o resultado obtenido. Además se

utilizara el método **Analítico** y **Comparativo** durante el estudio y procesamiento de las muestras.

TECNICAS DE INVESTIGACIÓN

Las técnicas empleadas en la investigación fueron: **Observación**, la misma que se dio durante el procesamiento de las muestras objeto de estudio. También se utilizó la técnica de **Entrevista**, realizada a los directivos y personal de diagnóstico del laboratorio y finalmente se utilizó el **Fichaje**, tomando en cuenta las fichas clínicas de los pacientes atendidos en el laboratorio de microbiología.

INSTRUMENTOS DE TRABAJO DE CAMPO

Estos instrumentos nos permitirán recolectar todos los datos necesarios para concluir de manera exitosa el proceso de investigación, entre los cuales tenemos:

- **Cuaderno de notas**, para tomar apuntes relevantes e importantes encontrados en el trabajo diario, además de claves de identificación y características específicas.
- **Fichas clínicas**, usadas para guiarnos mediante un diagnóstico presuntivo que emite el doctor o residente, con el objetivo de encaminar el diagnóstico microbiológico.
- **Fichas de campo**, nos sirven como constancia del trabajo diario registrado.
- **Formularios**, ayudan a recopilar todos los datos de pacientes atendidos.
- **Cámara fotográfica**, mediante las fotografías damos constancia de los hallazgos hechos y características físicas y morfológicas del germen en estudio.
- **Instrumentos de laboratorio**, todos encaminados a cumplir con el proceso de diagnóstico clínico microbiológico.

RECURSOS

Recursos humanos

❖ Autores de la tesis

- Lady Pinargote Cevallos
- Oscar Rivera Palma
- Freddy Ortega Palacios

❖ Autoridades del Hospital General de las Fuerzas Armadas

- Crnl. Julio Larreategui

❖ Personal del Laboratorio de Microbiología del Hospital General de las Fuerzas Armadas de Quito.

- Dr. Julio Ayabaca
- Lcda. Lucrecia Pavón

❖ Director de Tesis

- Lcdo. Pablo Barreiro

❖ Autoridades de la Facultad

- Dr. Hernán Rodríguez

Recursos técnicos

- Microscopios
- Incubadora
- Computadora
- Estufas
- Medios de cultivos
- Cajas Petri
- Instrumentos de Siembra
- Infraestructura y equipamiento del laboratorio

Recursos institucionales

- Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí
- Facultad de Ciencias Tecnológicas de la Salud
- Hospital General de las Fuerzas Armadas de la ciudad de Quito
- Laboratorio de Microbiología del Hospital Militar

Recursos materiales

- Materiales de escritorio (papel bond A4, esferográficos, CD-R, CD-RW, disketes, clips, grapas, carpetas, anillados, etc.)
- Equipos de computación

Recursos financieros

INSUMOS	COSTO \$
MATERIAL DE LABORATORIO	
Medios de cultivo (Agar Sangre, MacConkey, Agar Chocolate)	200
Medios de diferenciación e identificación	60
Agua destilada y tamponada	4
Materiales de toma de muestra	10
Tubos sin tapa y con tapa rosca	12
Reactivos de coloración	9
Hipoclorito de sodio	4
Instrumentos de siembra	7
Cajas petri	24
Placas portaobjetos y cubreobjetos	10
MATERIAL DE OFICINA	
Marcadores	5
Hojas de papel bond	10
Tinta para impresión	50
Diskettes	4
Cd's	15
Fotos	34
Anillados	6
OTROS SERVICIOS	
Transporte	300
Equipo de computación	5
Internet	40
Otros	25
TOTAL	834

**X. INTERPRETACIÓN BIOESTADÍSTICA Y GRÁFICA DE
RESULTADOS DEL TRABAJO DE CAMPO DE INCIDENCIA
DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN CAVIDADES
CERRADAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL
GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO DESDE
ENERO A DICIEMBRE DEL 2006.**

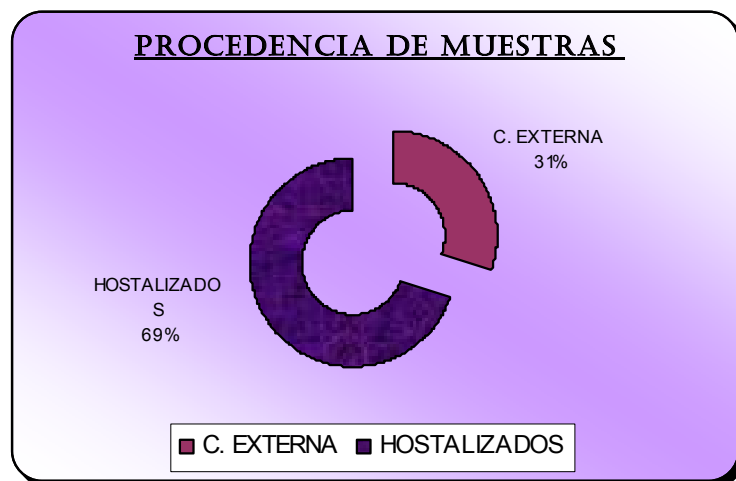
CUADRO N° 1

PORCENTAJE, DE ACUERDO A LA PROCEDENCIA, DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

PROCEDENCIA	N° DE PACIENTES	PORCENTAJE
PACIENTES HOSPITALIZADOS	399	69%
PACIENTES DE C. EXTERNA	176	31%
TOTAL:	575	100%

FUENTE: Pacientes del Hospital General de las Fuerzas Armadas (HG-1).

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: De acuerdo al trabajo de campo, se observa que de las 575 muestras analizadas durante el proceso de la investigación, el 69% corresponde a muestras de pacientes internados en la institución, como los del área de emergencia y de las diferentes áreas de hospitalización (traumatología, neurología, cirugía. UCI, etc.), mientras el 31% provinieron de pacientes de consulta externa.

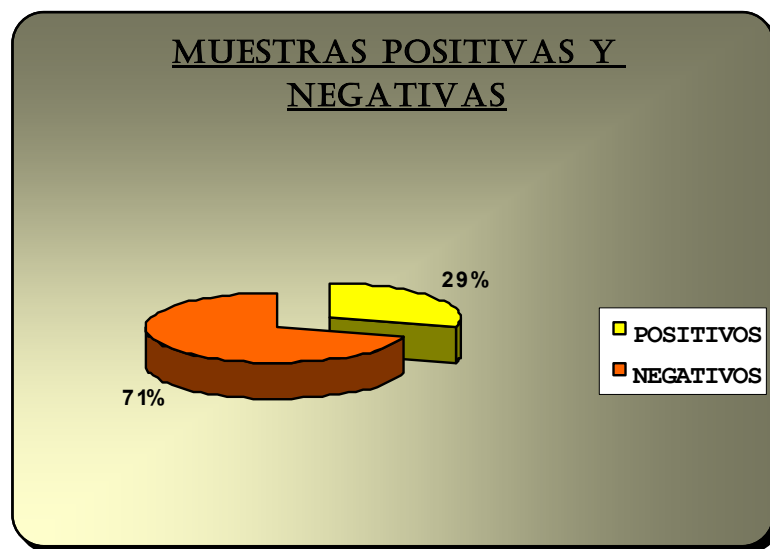
CUADRO N° 2

PREVALENCIA DE CULTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS DE MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

RESULTADOS	N° DE PACIENTES	PORCENTAJE
POSITIVAS	168	29%
NEGATIVAS	407	71%
TOTAL:	575	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: En base a los resultados obtenidos, se determinó que de las 575 muestras analizadas durante la investigación, el 71% fueron negativas para cultivos de bacterias u hongos; mientras que el 29% de las muestras restantes dieron resultados positivos ya que hubo algún tipo de crecimiento bacteriano, micológico o mixto.

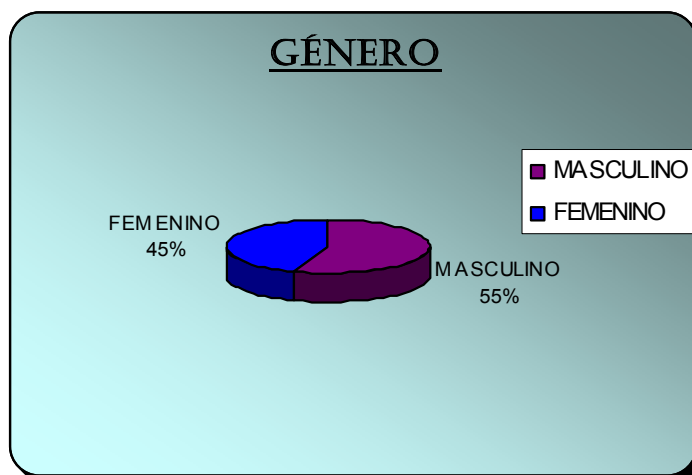
CUADRO N° 3

DISTRIBUCIÓN DE ACUERDO AL GÉNERO DE LAS 168 MUESTRAS POSITIVAS DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

GÉNERO	N° DE PACIENTES	PORCENTAJE
MASCULINO	93	55%
FEMENINO	75	45%
TOTAL:	168	100%

FUENTE: Pacientes HG-1

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANÁLISIS: En éste grafico se observa que de las 168 muestras con crecimiento microbiano positivo, el género masculino ocupa el 55%, que equivale a 93 pacientes; mientras que el 45% pertenece al género femenino con una cifra de 75 pacientes; lo que nos indica que los más afectados por estas infecciones fueron los hombres.

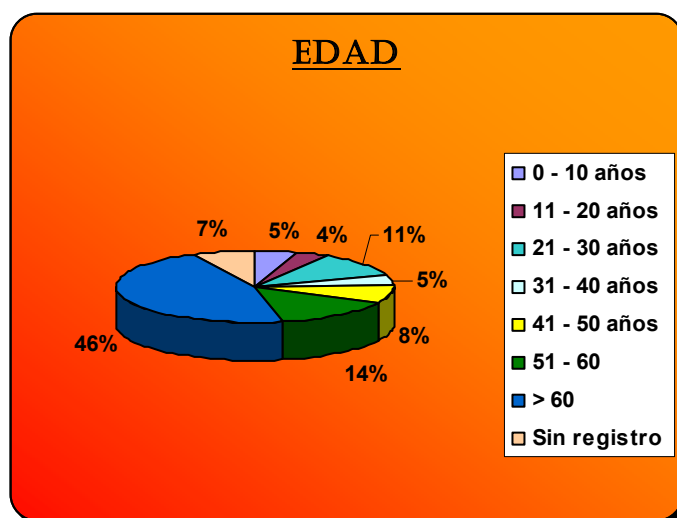
CUADRO N° 4

MUESTRAS POSITIVAS DE ACUERDO A LA EDAD DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

EDAD	N° DE MUESTRAS	PORCENTAJE
0 – 10 años	8	5%
11 – 20 años	7	4%
21 – 30 años	18	11%
31 – 40 años	8	5%
41 – 50 años	14	8%
51 – 60 años	24	14%
> 60 años	77	46%
Sin registro de edad	12	7%
TOTAL:	168	100%

FUENTE: Pacientes HG-1

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: Por medio del estudio de campo se aprecia que de las 168 muestras positivas, los pacientes pediátricos comprendidos entre 0 – 10 años presentaron un 5% de incidencia, seguidos por los pacientes de 11 – 20 años que obtuvieron el 4%. En los pacientes de 21 – 30 años el porcentaje ascendió a 11%; en la escala de 31 – 40 años el porcentaje es de 5% y los de 41 – 50 años 8%; se presento una mayoría en los pacientes de la tercera edad con un significativo porcentaje de 46% y finalmente se presento una cifra de pacientes en cuya historia clínica no constaba el registró de la edad y alcanza el 7%.

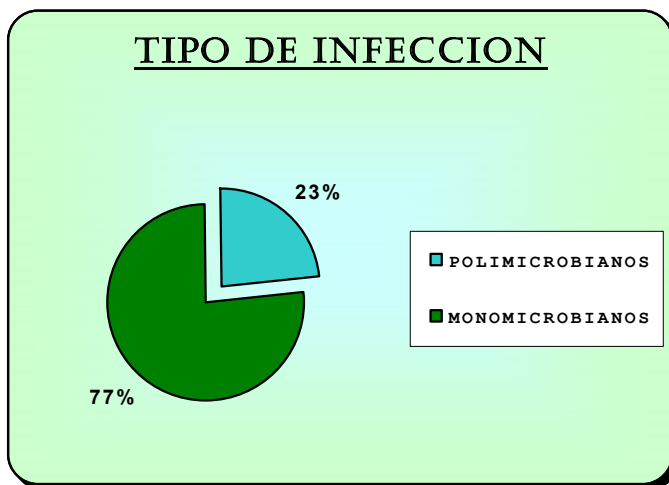
CUADRO N° 5

TIPO DE INFECCIÓN ENCONTRADA EN CULTIVOS POSITIVOS, BASADOS EN EL NUMERO DE PATÓGENOS AISLADOS EN LAS MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

TIPO DE INFECCIÓN	N° DE PACIENTES	PORCENTAJE
MONOMICROBIANAS	129	77%
POLIMICROBIANAS	39	23%
TOTAL:	168	100%

FUENTE: Pacientes HG-1, Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: El presente estudio determinó que de las 168 muestras positivas el 23% de las infecciones eran de origen polimicrobiano, es decir, que en el cultivo creció más de un microorganismo patógeno; mientras que el 77% fueron de etiología monomicrobiano, lo que indica que se identificó un solo tipo de microorganismo en la muestra.

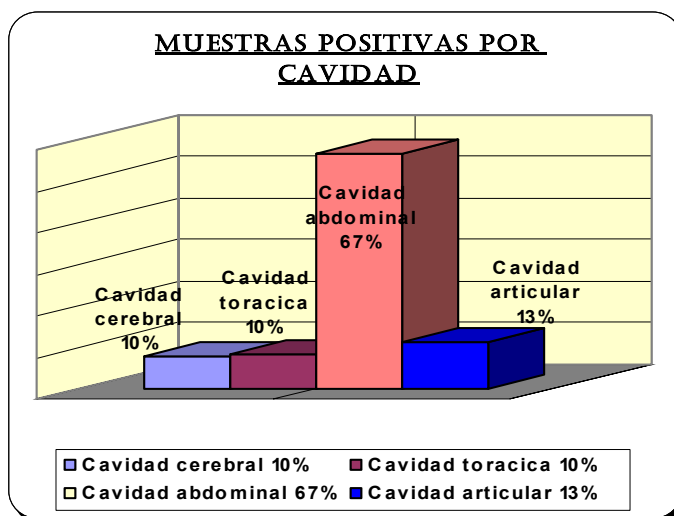
CUADRO N° 6

CULTIVOS POSITIVOS DE ACUERDO A LA CAVIDAD DONDE FUERON OBTENIDAS LAS MUESTRAS DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

CAVIDADES CERRADAS	N° DE MUESTRAS	PORCENTAJE
CAVIDAD CEREBRAL	16	10%
CAVIDAD TORÁCICA	17	10%
CAVIDAD ABDOMINAL	113	67%
CAVIDAD ARTICULAR	22	13%
TOTAL:	168	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: Entre las 168 muestras positivas se encontró que la cavidad abdominal con un 67% tuvo mayor cantidad de casos positivos; en segundo plano se encuentra la cavidad articular con el 13% y finalmente las cavidades cerebral y torácica comparten un porcentaje de 10% cada una.

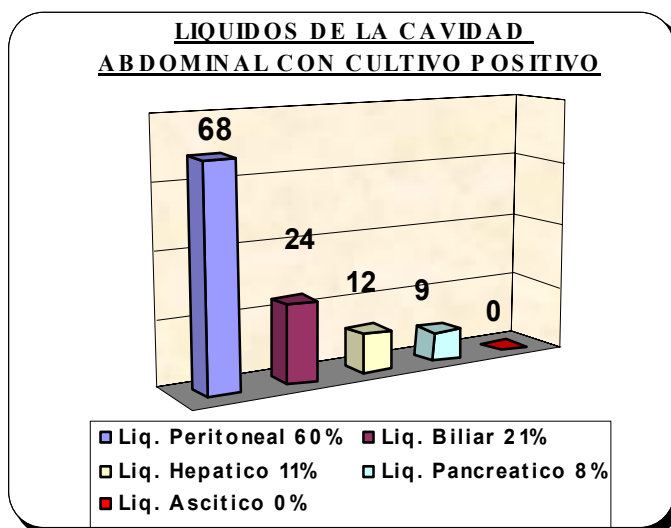
CUADRO N° 7

DISTRIBUCIÓN DE LAS 113 MUESTRAS POSITIVAS DE LA CAVIDAD ABDOMINAL DE ACUERDO AL LÍQUIDO ORGANICO OBTENIDO PARA EL ANLISIS DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

LÍQUIDOS DE LA CAVIDAD ABDOMINAL	N° DE MUESTRAS	PORCENTAJE
LIQ. PERITONEAL	68	60%
LIQ. BILIAR	24	21%
LIQ. HEPÁTICO	12	11%
LIQ. PANCREATICO	9	8%
LIQ. ASCITICO	0	0%
TOTAL:	113	100%

FUENTE: Paciente HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: En el presente estudio se puede observar que el líquido peritoneal con 60% tiene mayor frecuencia de infección, que el líquido biliar con 24%, el líquido hepático 12%, el líquido pancreático 9% y finalmente el liquido ascitico que no presentó ningún caso positivo y por ende le corresponde el 0% de los resultados.

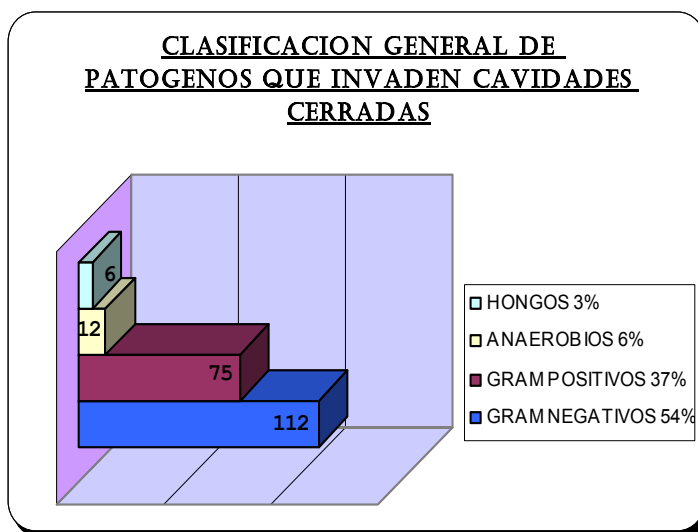
CUADRO N° 8

MICROORGANISMOS AISLADOS EN CULTIVOS POSITIVOS DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

MICROORGANISMOS	N° DE CASOS	PORCENTAJE
BACIOS GRAMNEGATIVOS	112	54%
COCOS GRAMPOSITIVOS	75	37%
ANAEROBIOS	12	6%
HONGOS	6	3%
TOTAL:	205	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: En este estudio la cifra total es de 205 debido a que como se expresa en el cuadro N° 5, existe un 23% de muestras en las que se halló mas de un microorganismo y este cuadro muestra el número de veces que determinado genero de patógeno fue aislado durante la investigación. De acuerdo a los resultados los bacilos gramnegativos se aislaron en un 54% de las muestras, por encima de los cocos grampositivos con el 37%, anaerobios con 6% y por ultimo en un porcentaje mínimo se identificaron solo el 3% de infecciones fúngicas.

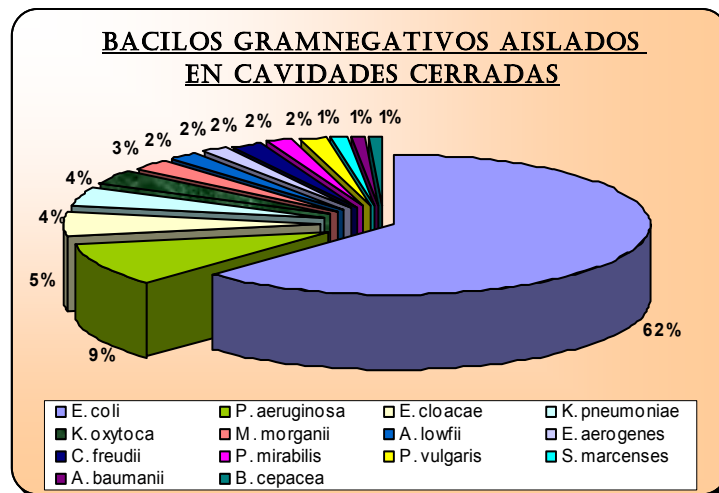
CUADRO N° 9

ESPECIES DE BACILOS GRAMNEGATIVOS AISLADOS EN CULTIVOS POSITIVOS DE MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

BACILOS GRAMNEGATIVOS	N° DE CASOS	PORCENTAJE
ESCHERICHIA COLI	70	62%
PSEUDOMONA AERUGINOSA	11	9%
ENTEROBACTER CLOACAE	6	5%
KLEBSIELLA PNEUMONIAE	5	4%
KLEBSIELLA OXYTOCA	4	4%
MORGANELLA MORGANII	3	3%
ACINETOBACTER LWOFII	2	2%
ENTEROBACTER AEROGENES	2	2%
CITROBACTER FREUDII	2	2%
PROTEUS MIRABILIS	2	2%
PROTEUS VULGARIS	2	2%
SERRATIA MARSCENSES	1	1%
ACINETOBACTER BAUMANII	1	1%
BURCODELIA CEPACIA	1	1%
TOTAL:	112	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: De los 112 casos de incidencia de bacilos gramnegativos en las muestras estudiadas, es claramente visible que la especie *Escherichia coli* es la predominante con un marcado porcentaje del 62%, seguido de una notoria diferencia por *Pseudomona aeruginosa* con el 9%. *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae* obtuvieron de los resultados el 4% por cada especie, mientras que *Morganella morganii* el 3%. Con menor incidencia se encuentran los, *Proteus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes* con un 2% respectivamente; y finalmente con el 1% cada una de las especies de *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii* y *Burkholderia cepacia*.

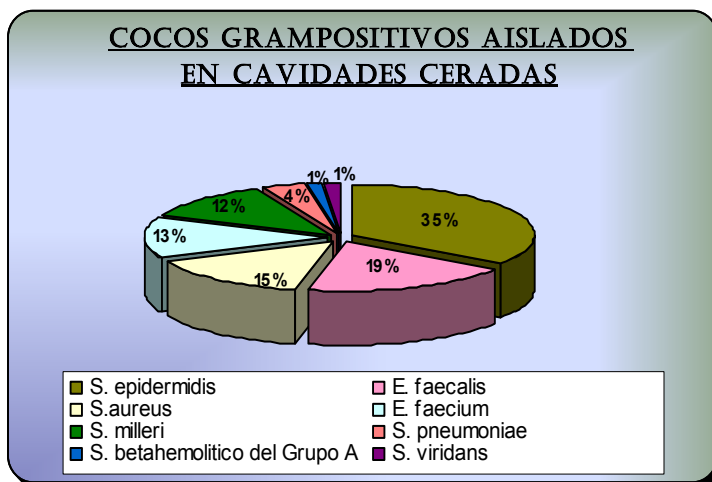
CUADRO N° 10

ESPECIES DE COCOS GRAMPOSITIVOS AISLADOS EN CULTIVOS POSITIVOS DE MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

COCOS GRAMPOSITIVOS	N° DE CASOS	PORCENTAJE
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	26	35%
ENTEROCOCCUS FAECALIS	14	19%
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	11	15%
ENTEROCOCCUS FAECIUM	10	13%
STREPTOCOCCUS MILLERI	9	12%
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE	3	4%
STREPTOCOCCUS BETAHEMOLITICO GRUPO A	1	1%
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	1	1%
TOTAL:	75	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: Los resultados demuestran que de los 75 casos de cocos grampositivos encontrados en las muestras el 35% pertenece al *S. epidermidis*, seguido del 19% por *E. faecalis*, 15% de *S. aureus*. El *E. faecium* y *S. milleri* ocupan el 13% y 12% respectivamente, *S. pneumoniae* el 4% y al final de la tabla se encuentra en igual porcentaje *S. betahemolítico del Grupo A* y *S. viridans* con el 1%.

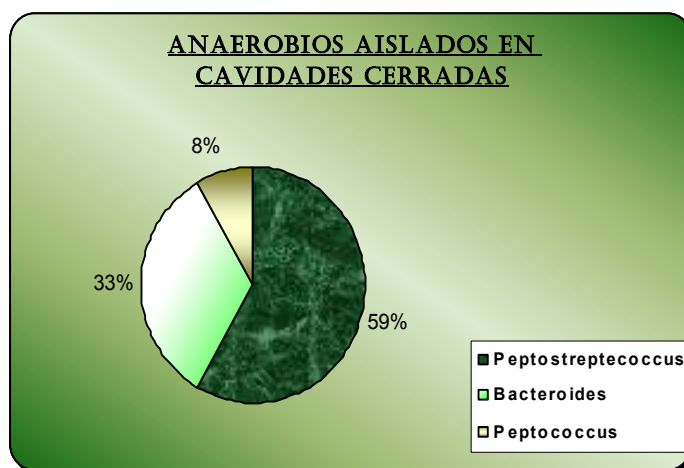
CUADRO N° 11

ANAEROBIOS AISLADOS EN CULTIVOS POSITIVOS DE MUESTRAS DE PACIENTES TENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

ANAEROBIOS	Nº DE CASOS	PORCENTAJE
PEPTOSTREPTOCOCCUS	7	59%
BACTEROIDES	4	33%
PEPTOCOCCUS	1	8%
TOTAL:	12	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: Según los resultados de la investigación se obtuvieron 12 aislamientos de anaerobios, de los cuales el 59% equivalen a la especie Peptostreptococcus, los bacteroides se aislaron en un porcentaje de 33% y en menor proporción se logro un 8% de aislamientos para Peptococcus.

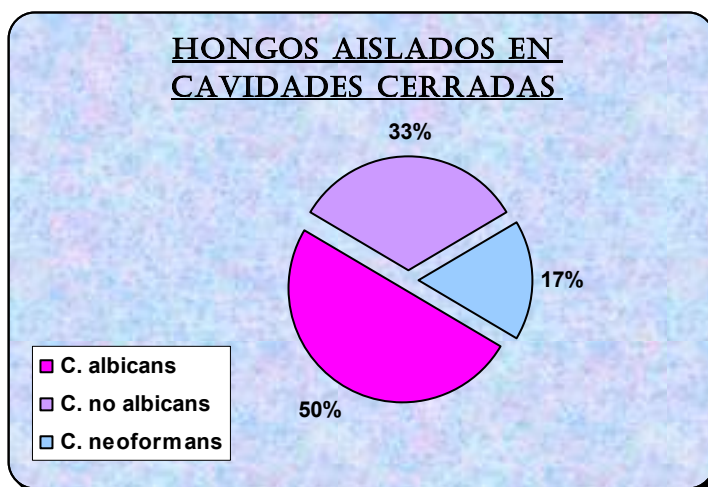
CUADRO N° 12

ESPECIES DE HONGOS AISLADOS EN CULTIVOS POSITIVOS DE MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

HONGOS	Nº DE CASOS	PORCENTAJE
CANDIDA ALBICANS	3	50%
CANDIDA NO ALBICANS	2	33%
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS	1	17%
TOTAL:	6	100%

FUENTE: Pacientes HG-1. Laboratorio de Microbiología.

AUTORES: Lady Pinargote, Freddy Ortega, Oscar Rivera.



ANALISIS: El presente estudio demuestra que las infecciones fúngicas de las muestras analizadas equivalen solo a 6 casos, de los cuales el 50% fue producto de la especie Candida albicans, el 33% a Candida no albicans y un solo caso de Cryptococcus neoformans que ocupa el 17%.

XI. ANALISIS GENERAL DEL TRABAJO DE CAMPO

Una vez finalizada la tabulación estadística del trabajo de campo de las 575 muestras de líquidos orgánicos de cavidades cerradas de pacientes atendidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General de las Fuerzas armadas de la ciudad de Quito de Enero a Diciembre del 2006, obtuvimos los siguientes resultados:

1.- De todos los pacientes atendidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Militar durante el 2006, se escogió como objeto de estudio las 575 muestras de líquidos orgánicos provenientes de cavidades cerradas, de pacientes hospitalizados y de consulta externa.

2.- Se determinó que de 575 muestras analizadas, el 29% que equivale a una cifra de 168, dieron como resultado cultivos positivos de crecimiento microbiano, ya sea este de etiología bacteriana, micológica o mixta.

3.- Este estudio revela que hay una diferencia discreta en cuanto al sexo, se pudo observar que el 55% de casos positivos pertenece al género masculino, versus el 45% de casos positivos en mujeres. Esto quiere decir que las infecciones de este origen no hacen distinción en cuanto a sexo se refiere.

4.- Según la edad, se demostró que como en muchas otras patologías, en las infecciones de cavidades cerradas (especialmente de la cavidad abdominal) son los ancianos el grupo más vulnerable. En este estudio se observó un número de 77 casos positivos en pacientes mayores de 61 años cuyo porcentaje es de 46%. Estos pacientes padecen problemas de salud crónicos como diabetes, insuficiencia renal, perforación peritoneal etc., por ende son propensos a la colonización oportunista de cualquier microorganismo presente en el medio.

5.- En algunos casos, los cultivos positivos mostraron el crecimiento de más de un patógeno en la misma muestra, lo que permitió el aislamiento no solo de un microorganismo, sino de dos y hasta tres gérmenes del mismo género u otro distinto. Los casos de infección de etiología polimicrobiana ocupan el 23%, frente a un índice mayor de 77% por infecciones monomicrobianas.

6.- De acuerdo a los resultados obtenidos, en los cultivos positivos de las 168 muestras de líquidos procedentes de cavidades cerradas, se presentó un mayor crecimiento de patógenos en los cultivos de líquidos de la cavidad abdominal con 67% que corresponde a 113 casos positivos. Esto se debe a la ubicación anatómica que ocupa dicha cavidad, ya que al estar en contacto con los intestinos, esta es más vulnerable a la invasión de microorganismos colonizadores de la flora gastrointestinal.

7.- En el análisis de muestras de la cavidad abdominal, se realizaron cultivos de líquidos provenientes de órganos abdominales. El líquido con mayores casos de cultivos positivos fue el líquido peritoneal con un 60%, estas muestras generalmente son obtenidas en apendicectomías, perforación peritoneal y otras cirugías abdominales. También se encontraron casos positivos en cultivos de líquidos y colecciones biliares, pancreáticas y hepáticas con porcentajes de 24%, 12% y 9% respectivamente.

8.- Basándose en la identificación microbiana de los cultivos, los microorganismos de mayor índice de aislamiento son los Bacilos Gramnegativos en un 54%, destacándose la especie *Escherichia coli* con 62% de los 112 casos positivos y presente en muestras procedentes de todas las cavidades. En relación con la incidencia de los Grampositivos que aunque poseen un predominio menor (pero no insignificante) de 37%, tiene como prevalencia a las especies de *S. aureus* en 35% y *S. epidermidis* con 19%, microorganismos que al pertenecer a la flora

normal humana, en condiciones adecuadas invaden fácilmente al organismo convirtiéndose en gérmenes patógenos, caracterizados por su multiresistencia a los antibióticos.

XII. COMPROBACIÓN DE HIPOTESIS Y VARIABLES

De acuerdo a las hipótesis propuestas y a la obtención de los resultados de las 575 muestras de líquidos orgánicos en cavidades cerradas de los pacientes atendido en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General de las Fuerzas Armadas de la ciudad de Quito desde Enero a Diciembre del 2006; hemos demostrado que: la aplicación correcta de pruebas realizadas en el laboratorio de microbiología, uso de tecnologías e innovaciones en el diagnóstico clínica derivaron a identificar precisa y oportunamente al agente causal de las infecciones halladas en las diferentes cavidades del cuerpo humano, para de esta manera llegar a un diagnóstico médico oportuno y una recuperación total de la salud del paciente.

Además, el grado de la infección presente está condicionada por el tipo de microorganismo invasor y depende también de la cavidad que sea invadida por el mismo. Es el caso de las infecciones en la cavidad abdominal ya que pueden presentar complicaciones en su cuadro clínico, debido a que en muchas ocasiones, son de origen polimicrobiano, tanto de la misma especie o de diferentes especies (gramnegativos y grampositivos), e incluso levaduras; tal como lo demuestra el estudio, en el que se encontraron un 77% de infecciones monomicrobianas frente a un importante 23% de infecciones polimicrobianas, las mismas que derivaron en complicaciones explicadas anteriormente. En el caso de que un microorganismo invada la cavidad cerebral (sin importar la especie), representará un riesgo para el paciente, ya que se verá afectado el SNC que controla todo el organismo, en este caso, la gravedad de la infección puede llegar a ser mortal y de no serlo en ocasiones deja secuelas en la salud del paciente. Por otro lado, la especie de patógeno que invada cualquier cavidad va a incidir en el curso de la enfermedad y recuperación de la salud del paciente. Es así, que según los resultados obtenidos en la investigación, el 62% de los bacilos gramnegativos

aislados fueron E. coli, un patógeno con amplia difusión en hallazgos microbiológicos y a la vez con una resistencia microbiana muy amplia en los últimos tiempos, gracias a sus factores de adherencia y características antigénicas en general.

XIII. COMPROBACIÓN DE OBJETIVOS

De acuerdo a los objetivos planteados y a la recolección de datos se demostró que existe una incidencia de 29% de cultivos con crecimiento patógeno, es decir casos positivos de infección en cavidades cerradas causantes de patologías clínicas como meningitis, endocarditis, peritonitis y artritis séptica.

Considerando que la investigación se realizó en una institución ampliamente capacitada tanto en personal como en métodos de diagnóstico microbiológico, se utilizaron las técnicas de aislamiento e identificación bioquímica más específicas requeridas para el análisis. Tomando en cuenta el valor diagnóstico significativo de las técnicas empleadas en la institución, se logró la identificación precisa de los géneros y especies de microorganismos con mayor incidencia en las muestras clínicas objeto de estudio, además de permitir la observación de cada una de las características que poseen y que son básicos para diferenciarlos entre sí.

Se determinó que la cavidad más susceptible a ser invadida por microorganismos es la cavidad abdominal, con un 67% de incidencia a ser infectada, debido a su ubicación anatómica, ya que al estar compuesta por diferentes órganos secretores y los intestinos cualquier traumatismo externo causará la infección de esta cavidad de una manera grave y muchas veces fulminante si no se trata a tiempo. Además se demostró que la *E. coli* fue una de las bacterias más encontradas en el estudio con una presencia de 70 casos en el transcurso de la investigación, así como los *S. epidermidis* con 26 casos hallados, mientras las bacterias anaerobias como el *peptostreptococcus* se halló en 7 casos y *candida albicans* en 3 ocasiones, de esta manera quedó comprobado que microorganismos fueron los más frecuentes hallados en el trabajo de campo.

El factor edad delinea los resultados obtenidos, demostrando que influye directamente en la predisposición y desarrollo de la enfermedad. El sexo del individuo tiene una intervención menor en estas patologías, puesto que estaría más condicionada al estado inmunológico del paciente y a las enfermedades crónicas que arrastre consigo éste y que con el transcurso del tiempo se transforman en enfermedades degenerativas desencadenando una situación adecuada para la colonización de microorganismos oportunistas.

La comprobación de los objetivos planteados demostró que el estudio de las diferentes patologías nos permitió conocer las complicaciones que pueden presentarse así como la importancia de una promoción de la salud a pacientes en general, para de esta manera enfrentar la problemática y ser parte de la prevención y erradicación de este tipo de infecciones; sin dejar a un lado la evidente necesidad de capacitación continua del personal de laboratorio y el conocimiento diario de las innovaciones en el área de la salud.

XIV. INFORME EJECUTIVO CON IMPACTO SOCIAL

La invasión por microorganismos en cavidades cerradas son la principal causa de una serie de patologías graves e incluso mortales que afectan a los principales órganos vitales del cuerpo humano. Con el transcurso del tiempo y aún con los avances antimicrobianos, esta problemática es considerada un mal social a nivel mundial, ya que los patógenos oportunistas no hacen ninguna distinción sobre género o edad. Como consecuencia de las condiciones higiénicas, ambientales, laborales e inmunológicas, una mala salud afecta la calidad de vida de las personas y su disponibilidad para laborar en sus trabajos. La prevalencia de las infecciones en cavidades cerradas aumenta con la edad, siendo más susceptibles los adultos mayores de 60 años. Aunque existen cifras considerables de niños afectados, sobre todo neonatos. Esto se debe a que el principal factor desencadenante es la carga inmunológica que posee cada individuo y como es sabido, son los ancianos y niños los que poseen menos estructurada sus defensas.

En base a la investigación realizada en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General de las Fuerzas Armadas de la Ciudad de Quito; de las 575 muestras que fueron objeto de análisis microbiológico, 168 presentaron crecimiento en los cultivos, de gérmenes patógenos que equivalen al 29% de las muestras obtenidas durante la investigación.

Es significativo anunciar que dentro del grupo de estudio, las diferentes patologías que acompañan las infecciones en cavidades cerradas no determinan sexo, ya que la diferencia de incidencia entre el género masculino y femenino solo es del 10%.

Los resultados de los cultivos manifestaron que en las personas de la tercera edad existe mayor prevalencia de adquirir enfermedades oportunistas (46%), debido a que su resistencia inmunológica se

encuentra quebrantada, por enfermedades que arrastran por años y que con el pasar del tiempo se vuelven crónicas y de difícil tratamiento.

Es pertinente revelar que la especie mayormente aislada en este tipo de cultivos, es *Escherichia coli*. Esto se debe a la capacidad del microorganismo para invadir cualquier sitio anatómico, diversidad de subespecies y resistencia a los tratamientos antimicrobianos. Aunque es significativo también la incidencia de Grampositivos, puesto que al ser parte de la flora habitual puede fácilmente transformarse en germen invasor y provocar una diversidad de patologías de curso insidioso y por tanto de difícil tratamiento, como es el caso de de los estafilococos, cuya multiresistencia antimicrobiana impide en muchas ocasiones aplicar la profilaxis adecuada.

Por otra parte existes las infecciones polimicrobianas que aunque no se encuentran con mucha frecuencia, complican el cuadro clínico de los pacientes haciendo mas grave el curso de la enfermedad.

Conociendo que la Universidad es una entidad que forma personas capacitadas para satisfacer las demandas sociales que genera continuamente nuestro medio y la competencia diaria por ser mejores profesionales, la facultad de ciencias tecnológicas de la salud debe elevar el nivel de educación, implantando la cultura de la investigación, apoyándola e incentivándola para de esta manera permitir que los estudiantes adquieran conocimientos básicos y actualizados sobre este y muchos otros temas desconocidos pero de trascendencia en el área de la salud. De esta manera estaremos más aptos para seguir orientando a la comunidad y por ende mejorar la calidad de vida del paciente al colaborar con la salud preventiva.

XV. CONCLUSIONES

1.- De las 575 muestras obtenidas durante el periodo de investigación, es decir el 100%, se receptaron en el laboratorio muestras de pacientes hospitalizados en la institución, así como de consulta externa. En el primer caso las muestras fueron derivadas de las diferentes áreas médicas como: traumatología, gastroenterología, neurología, neumología, pediatría, neonatología, Unidad de Cuidados Intensivos y cirugía, representando el 69% de las muestras recibidas. Por otro lado el 21% restante representa a las muestras procedentes de consulta externa, en su mayoría provenientes de otras instituciones de salud (Hospital Eugenio Espejo).

2.- De acuerdo a los resultados de los cultivos realizados a las 575 muestras, encontramos que 407 muestras que corresponden al 71%, dieron cultivos negativos para microorganismo alguno; mientras el 29% que equivalen a 168 muestras, presentaron crecimiento bacteriano o micológico en algunos de los diferentes medios que se utilizaron para su aislamiento.

3.- En relación al género se pudo determinar que del total de las muestras positivas (168 muestras), el 55% de los casos presentados pertenecen al género masculino, frente a un 45% de casos positivos en mujeres. En lo que a la edad respecta, constituye un factor importante. Según los resultados obtenidos en la investigación el porcentaje representativo lo ocupan los pacientes mayores de 61 años con el 46%. En un rango intermedio se encuentran los pacientes de 51-60, 41-50, 31-40, 21-30, y 11-20 con porcentajes de 14%, 8%, 5%, 11% y 4% respectivamente, sumado a este grupo esta el 7% de los pacientes sin registro de edad que también fueron tomadas en cuenta para la investigación. Finalmente en los pacientes de 0-10 años se registro un 5% de casos positivos, porcentaje pequeño pero importante puesto que al tratarse de niños y neonatos se corre el riesgo de complicaciones.

4.- Durante la observación de los cultivos positivos, pudimos determinar que en algunas ocasiones se presentó el crecimiento de más de una especie de microorganismo en el mismo medio de cultivo; cuando en otras ocasiones solo creció un germen determinado. Es así que los resultados obtenidos fueron del 23% de infecciones polimicrobianas, mientras que el 77% fueron monomicrobianas.

5.- De acuerdo a la procedencia de las muestras se pudo determinar que la cavidad con mayor incidencia de invasión microbiana fue la cavidad abdominal. Se obtuvo un porcentaje de 67% de casos positivos para la cavidad abdominal; en menor proporción está la cavidad articular con un 13%, y finalmente se presentó un 10% tanto para la cavidad cerebral, como para la cavidad torácica.

6.- Debido a que en la cavidad abdominal se pueden encontrar líquidos de diferente procedencia como: el líquido peritoneal, que en sí humedece la cavidad abdominal pero además se encuentran los líquidos de los órganos como: el líquido pancreático, hepático y biliar; finalmente se encuentra el líquido ascítico que aunque no es un líquido estéril se trata de un líquido patológico que es objeto de estudio. Se presentaron casos de cultivos positivos de 68% para el líquido peritoneal, 24% para el líquido biliar, 12% y 9% para líquidos hepático y pancreático, mientras que para el líquido ascítico no se presentó ningún caso, es decir 0%.

7.- Debido a que en 39 casos de cultivos positivos se presentó crecimiento polimicrobiano, el número total de casos de microorganismos aislados es de 205. Tomando en cuenta los resultados, los microorganismos con mayor incidencia son los bacilos gramnegativos con 112 casos encontrados, es decir 54 % del total. Seguido de los cocos grampositivos con un 37%, anaerobios 6% y hongos en un 3%. Esto demuestra la prevalencia de infecciones por bacilos gramnegativos. No obstante los grampositivos constituyen un porcentaje importante, por ser

parte de la flora normal, y por su amplia disposición en el medio ambiente. En el caso de los anaerobios las infecciones se ven facilitadas por las condiciones orgánicas del paciente al igual que las infecciones fúngicas.

8.- De los 112 casos positivos de bacilos gramnegativos la especie predominante fue *Escherichia coli* con un porcentaje de 62% que equivale a 70 aislamientos de este germen; también se pudo aislar en un 11% la especie de *Pseudomona aeruginosa* y en mínimos porcentajes se encontraron otras especies no muy comunes, pero si de considerable patogenicidad al momento de invadir una cavidad cerrada.

9.- En cuanto al aislamiento de cocos grampositivos, se pudo determinar que las especies de *Estafilococos* poseen mayor incidencia en las infecciones de cavidades cerradas. La especie más aislada fue *S. epidermidis* con un 35% de casos positivos, lo cual se debe a la amplia distribución de este microorganismo en el medio ambiente y en pacientes susceptibles puede causar enfermedad. En menor proporción se encuentran el *E. Faecalis* con 19% de casos positivos mientras el *S. aureus* aislado en un 15%. Finalmente los estreptococos se encuentran en menor frecuencia, aunque en una cantidad representativa que incide en la salud del paciente.

10.- Los pocos casos de gérmenes anaerobios presentados en la investigación fueron 12, de los cuales 7 casos determinaron la presencia de la especie *Peptostreptococcus* con un porcentaje de 59%, mientras que se establecieron menos casos de *Bacteroides* y *peptococcus* con 33% y 8% respectivamente. Estos gérmenes por lo general son poco aislados debido a sus requerimientos de oxígeno lo cual dificulta su crecimiento y por tanto su identificación. Por otro lado, en los aislamientos de hongos, la especie de mayor predominio es *C. albicans* con 50% de casos positivos, precedido de las especies de *C. no albicans* con 33%. Cabe mencionar

que durante la investigación se encontró un caso positivo de C. neoformans, equivalente al 17%.

XVI. SUGERENCIAS

Al finalizar el presente trabajo de investigación, ponemos a consideración las siguientes recomendaciones:

Para el paciente:

1. Si el paciente presenta factores de riesgo como tratamientos inmunosupresores u enfermedades inmunológicas, diabetes, insuficiencia renal, adaptación de prótesis y otros ya indicados; y si además tiene una edad avanzada, debe mantener chequeos con el medico constantemente y seguir las indicaciones por éste impartidas.
2. Conocer las diferentes complicaciones que puede ocasionar la enfermedad crónica que padece y saber reconocer los lugares y/o circunstancias en las cuales puede contraer una infección que pueden afectar su salud a largo plazo.
3. Siempre considerar cada signo y síntoma que pueda estar relacionada con alguna infección en cavidades cerradas como son: fiebre, cefaleas, mareos, dolores articulares, complicaciones en sitios donde existen prótesis, dolor abdominal, tos crónica, etc.
4. Si aun no presenta signos, pero si riesgos de padecer una patología por infección en determinada cavidad, seguir el tratamiento profiláctico prescrito por el medico; de la misma manera si ya fue infectado por al algún patógeno oportunista, conocer que son infecciones de difícil erradicación y por tanto debe seguirse rigurosamente el tratamiento antibiótico emitido por el especialista.

Para el laboratorista:

1. Tomar en cuenta que la obtención de muestras demanda hacer punciones en sitios anatómicos de delicado acceso y por tanto se requieren de destrezas especiales, siendo la practica fundamental para realizar este tipo de toma de muestras. Aunque por lo general, es el medico el encargado de realizar la toma de muestras de líquidos de cavidades cerradas puesto que ellos poseen los conocimientos necesarios, pero como profesionales en salud debemos mantenernos inmersos en el tema para cuando se nos presente la oportunidad.
2. Vigilar siempre la asepsia del lugar donde se realizara la punción, esto evitará la contaminación de la muestra por flora residente. De la misma manera conservar en completa esterilidad todos los instrumentos usados desde la toma de muestra, procesamiento y análisis de la misma, para preservar las bacterias exigentes y evitar bacterias oportunistas que puedan causar interferencia en el aislamiento e identificación de los patógenos de importancia clínica que pueda contener la muestra.
3. Recopilar todos los datos del paciente, en lo posible: edad, sexo, procedencia de la muestra, hora de la recolección, historia clínica, diagnostico presuntivo y si fue administrado o no tratamiento antibiótico.
4. Tener presente en todo momento las normas de bioseguridad, tratar toda muestra como infecciosa, usar guantes y lavar constantemente las manos.
5. Realizar controles de calidad continuos, a medios de cultivos, discos de sensibilidad, medios de transporte, soluciones de dilución, aguas tamponadas, tinciones y reactivos utilizados para

esta área. Obtener cepas certificadas y controladas por la ATCC, para realizar un control de calidad óptimo.

6. Utilizar medios de cultivos diferenciales y selectivos para el aislamiento de bacterias y hongos, para de esta manera poder obtener crecimiento no solo de las especies comunes sino además de aquellas estrictas y por tanto de difícil crecimiento.
7. Aislar de manera correcta las colonias que son sospechosas, no mezclar colonias y ejecutar de manera precisa las baterías y pruebas de identificación de cada especie.
8. Utilizar todas las técnicas rápidas, antiguas o actuales que posean base científica, es decir, recurrir a todos los recursos necesarios para identificar de manera adecuada el tipo de especie de cualquier bacteria u hongo, por más exigente que este sea.
9. Cumplir las técnicas de antibiograma actuales, bajo todos los regimenes de turbidez, colocación de discos y vigilar el antagonismo bacteriano.
10. Nunca dejar de aprender, actualizarse en otras ciudades y por que no en otros países, abrir la mente ante nuevas técnicas y métodos de diagnostico. Finalmente capacitarse continuamente para ser un profesional con ética y conocimientos, no conformarse solo con ser técnicos.

Para el médico:

1. No descartar el estudio microbiológico de los líquidos de cavidades cerradas, no menospreciar el cultivo, y tomar muy en cuenta que día a día la resistencia de los microorganismos a los antibióticos a

es más amplia, existen más cepas de bacterias multiresistentes y los pacientes sufren más casos de sensibilidad a microorganismos.

2. Recoger de manera adecuada la muestra, enviar los datos completos del paciente y brindar las indicaciones pertinentes al paciente.
3. Colaborar con el laboratorio, ofreciendo la información necesaria sobre la historia clínica del paciente, evolución de la patología y el diagnóstico presuntivo. Recordar que el laboratorio constituye una de las bases que junto a otras áreas médicas ayuda al médico a la correcta identificación del origen de una enfermedad y por consiguiente su tratamiento adecuado.

XVII. PROPUESTA DE MEJORAMIENTO Y PREVENCIÓN DE INFECCIONES EN CAVIDADES CERRADAS ENCONTRADAS EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS DE QUITO HG-1.

INTRODUCCION

Debido a su amplia difusión en todos los ambientes, los microorganismos pueden llegar a invadir cualquier parte del organismo, incluso aquellos sitios estériles, donde se encuentran órganos que regulan y mantienen las funciones del cuerpo humano. La invasión de cualquier microorganismo a estas cavidades va a producir una serie de complicaciones en la salud del paciente, lo que va a ser favorecido por la cavidad donde se produzca la invasión y el tipo de germen causante de la misma, además de otros factores como ingestión de antibióticos y enfermedades inmunosupresoras, lo que causa una serie de patologías que derivan en el empeoramiento de la salud.

Considerando que este tipo de infecciones no discrimina entre sexo, edad ni condición social, es de importancia que las autoridades de salud de las diferentes instituciones, en este caso el HG-1, tomen medidas ante esta problemática. Ya que gracias al estudio realizado se observó que de las 575 muestras un 29%, que corresponden a 168 muestras, fueron positivas para cultivo bacteriano y/o micológico, lo que indica un importante factor de morbi-mortalidad en la salud pública y en la comunidad.

JUSTIFICACION

El presente trabajo está basado en una investigación, realizada en la capital de la república, Quito, respondiendo a la imperante necesidad de conocer, contrarrestar y prevenir las infecciones en las cavidades

cerradas del cuerpo humano además de determinar la incidencia de estos hallazgos en el laboratorio de microbiología y la manera adecuada de llegar al diagnóstico microbiológico clínico.

Este estudio está orientado a lograr objetivos planteados, los cuales se han cumplido con la capacitación del personal del laboratorio, el trabajo diario con estas muestras, sugiriendo conciencia social y erradicando la ignorancia de ciertas personas sobre este tema en particular, inculcando a los usuarios del servicio de microbiología, mejorar y mantener una calidad de vida, lo que preserva su salud y disminuye las posibilidades de morbi-mortalidad muy común en estos tiempos.

Es por esto que el trabajo de investigación de campo realizado en el HG-1 de la ciudad de Quito, va a incidir en el bienestar y el mejoramiento de la salud del grupo involucrado sujeto-objeto de estudio, a la vez de brindar un beneficio hacia la comunidad militar y civil atendidas en la institución en mención.

En consecuencia se busca llamar la atención a la comunidad, a tener conciencia social y una adecuada salud preventiva, a las autoridades de salud para que aporten con los recursos y tecnologías adecuadas para poner a disposición el procesamiento de este tipo de muestras en las instituciones públicas y privadas; y a los profesionales de salud para no obviar ciertos estudios que son de significación clínica y trascendentales para un buen diagnóstico.

OBJETIVO GENERAL

Colaborar por medio de este trabajo a reducir los índices de morbi-mortalidad de los pacientes hospitalizados y ambulatorios que llegan al laboratorio de microbiología, compartir los conocimientos adquiridos en este proceso y ayudar a la mejora continua de la salud de la comunidad.

Actividades a emprender.

Estudiar minuciosamente la problemática en mención en la ciudad de Quito, con una proyección a llegar a las diferentes entidades de salud y compartir procedimientos y técnicas para que entidades publicas y privadas tengan acceso a este tipo de diagnostico.

Informar continuamente a la población, por medio de fotos y diapositivas para demostrar las diferentes patologías y complicaciones que se vieron durante el proceso de investigación.

Implementar un área especifica para este tipo de muestras, con tecnología avanzadas y todos los medios para lograr un diagnostico adecuado.

Actualizar las técnicas utilizadas en el laboratorio, basados en textos actualizados y documentos de Internet, estar al tanto de cambios en el proceso y en el diagnostico, y cumplir de manera adecuada todos los procesos como deben de ser.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

- Konemam, E., Allen, S., Diagnostico Microbiológico. 5^a Edición. Editorial Médica Panamericana. 2004.
- Bailey y Scott. Diagnostico Microbiológico. 11^a Edición. Editorial Médica panamericana. Buenos aires – Argentina. 2004
- Suárez M. MD. MEDICRIT. Revista de Medicina Interna y Medicina Critica. Vol. 4. N° 4. Mérida-Venezuela. Agosto 2004.
- Zurita, J., Recolección y transporte de muestras en Microbiología Clínica. Organización Panamericana de Salud. 2004.
- Nieto, J., Sepsis Abdominal. Infecciones en cirugía. Editorial Panamericana. Bogota-Colombia. 2001.
- Océano Grupo editorial. S.A., Diccionario de medicina Océano Mosby. Ed. Océano. Barcelona – España.

XIX.

ANEXOS

ANEXO N° 1



Figura N° 1. : Toma de muestra de LCR (posición sentada)



Figura N° 2. : Toma de muestra de LCR (posición acostado)



Figura N° 3. : Toma de muestra de LCR en niños

ANEXO N° 2



Figura N° 1. Toma de muestra de líquido peritoneal



Figura N° 2. Toma de muestra de líquido peritoneal

ANEXO N° 3

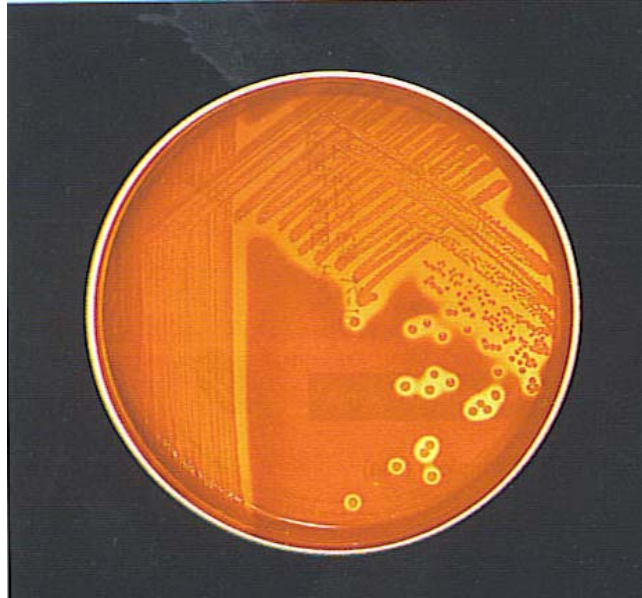


Figura N° 1. *Staphylococcus aureus* con beta-hemólisis

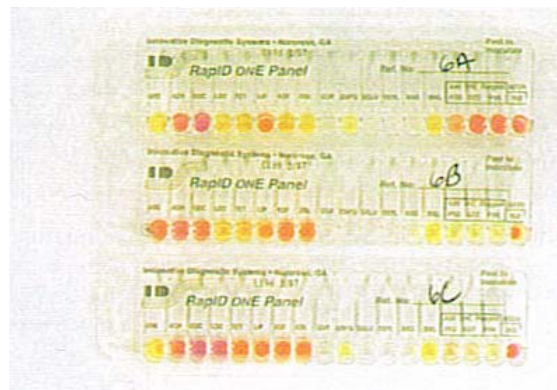


Figura N° 2. Sistema IDS Rapid onE

ANEXO N° 4



Figura N°1. Streptococcus viridans



Figura N°2. Streptococcus pneumoniae

ANEXO N° 5

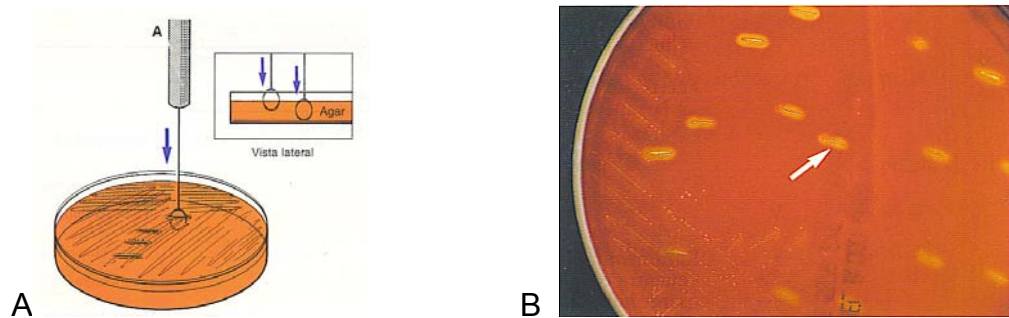


Figura N° 1. Punción vertical del agar con el ansa después de estriar la placa de agar sangre (A) permite que las colonias que se encuentran por debajo de la superficie expresen la hemólisis causada por la estreptolisina O

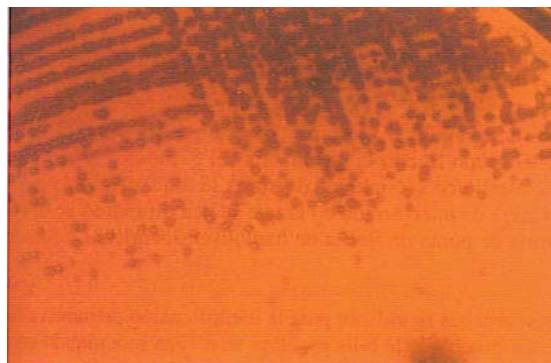


Figura N° 2. Estreptococos alfa hemolíticos en agar sangre de carnero

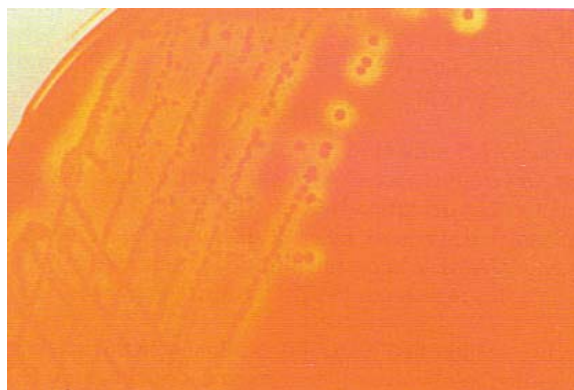


Figura N° 3. Estreptococos beta hemolíticos en agar sangre de carnero

ANEXO N° 6



Figura N° 1. Streptococcus del Grupo A en agar sangre de carnero



Figura N° 2. Streptococcus viridans en agar sangre de carnero

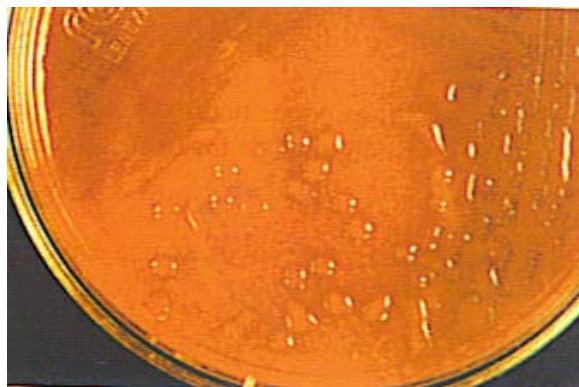


Figura N° 3. Streptococcus pneumoniae en agar sangre de carnero

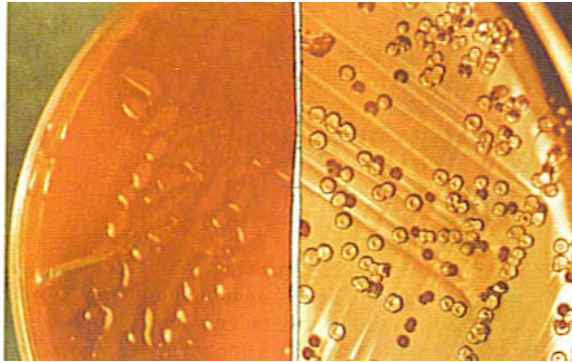


Figura N° 4. *Streptococcus pneumoniae* en sangre de carnero. **Izquierda,** típica cepa mucoide alfa-hemolítica. **Derecha,** muestra colapso de la porción central de las colonias por autólisis de los microorganismos (colonias en ficha de damas)

ANEXO N° 7

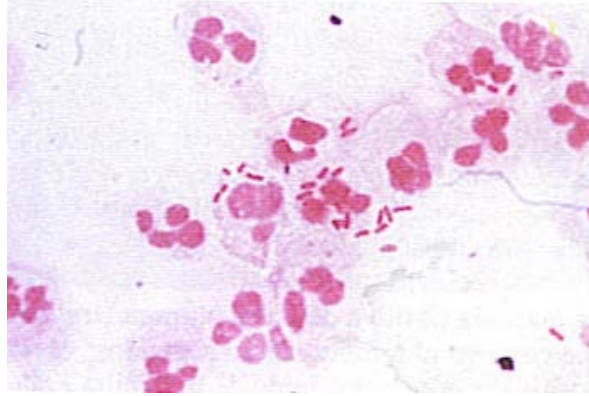


Figura N° 1. Escherichia coli en tinción de Gram.

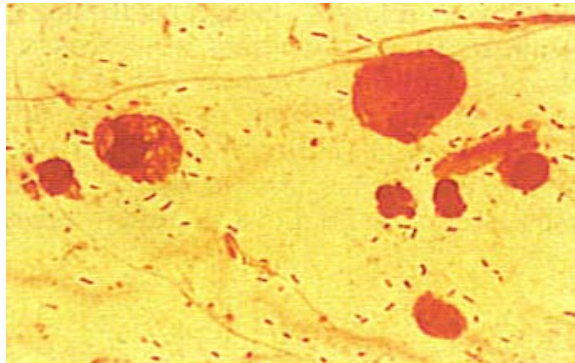


Figura N° 2. Klebsiella pneumoniae

ANEXO N° 8

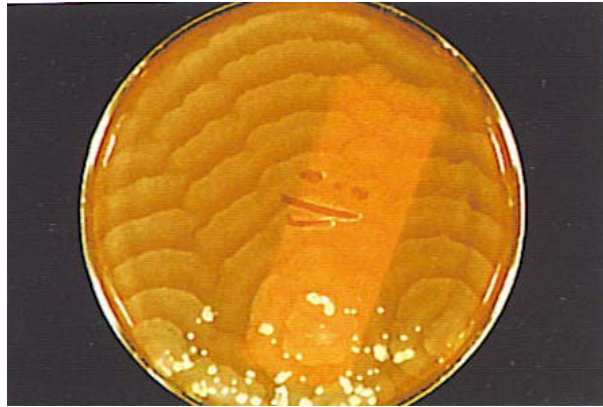


Figura N° 1. Fenómeno de dispersión o “swarming”, producto de invasión por *Proteus*

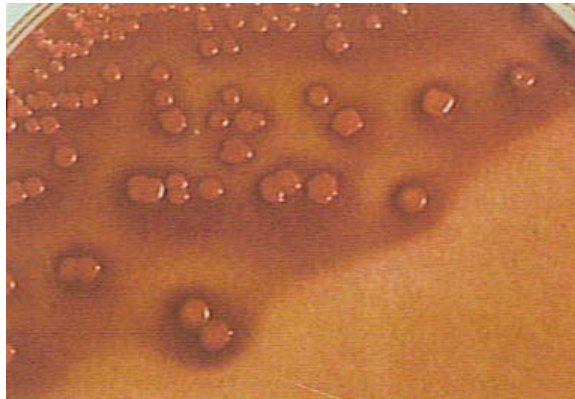


Figura N° 2. *Escherichia coli* en agar MacConkey

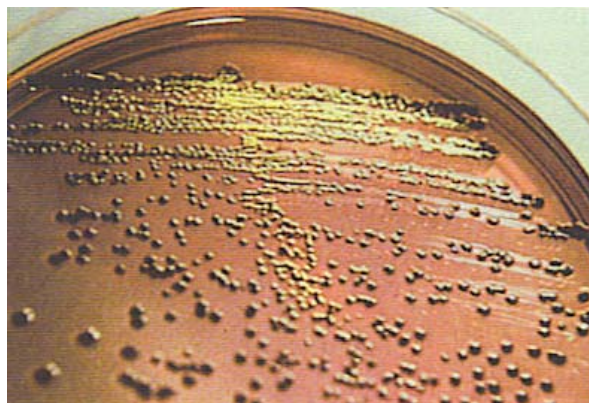


Figura N° 2. *Escherichia coli* en agar EMB, presente colonias de color verdoso con brillo metálico por fermentación de lactosa

ANEXO N° 9

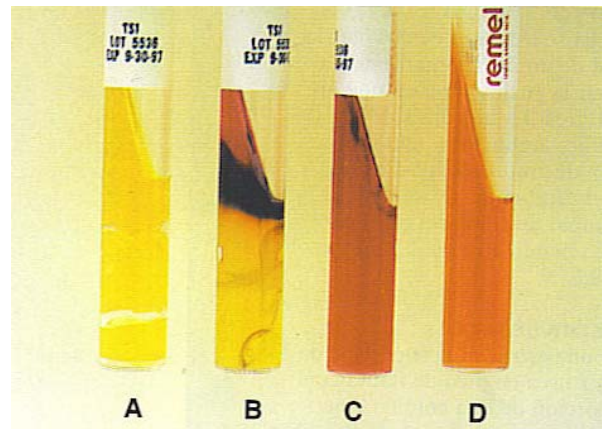


Figura N° 1. Agar triple azúcar (TSI). **A.** Pico de flauta ácido/fondo ácido con gas, Sin H₂S (A/A). **B.** Pico de flauta alcalino/fondo ácido, ausencia de gas, H₂S positivo (K/A H₂S+). **C.** Pico de flauta alcalino/fondo sin cambios, ausencia de gas y de H₂S (K/K). **D.** Tubo sin sembrar

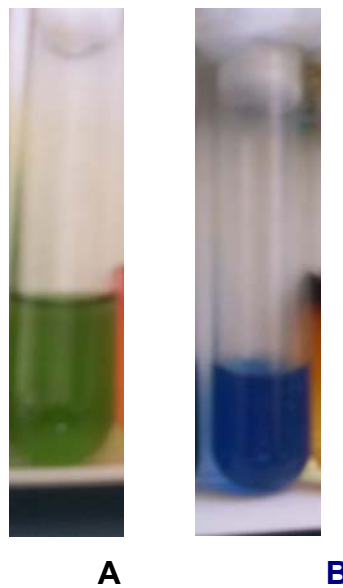


Figura N° 2. Medio Simmons Citrato. **A.** negativo. **B.** Positivo

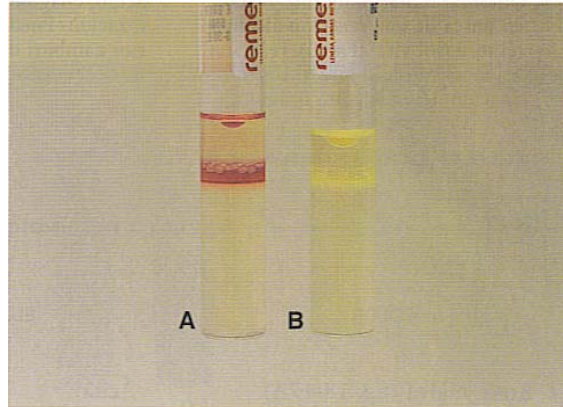


Figura N° 3. Agar SIM para prueba de indol **A.** Positiva. **B.** Negativa



Figura N° 4. **A.** Prueba de lisina negativa. **B.** Prueba color púrpura positiva. **C.** Tuvo control que contiene lisina.

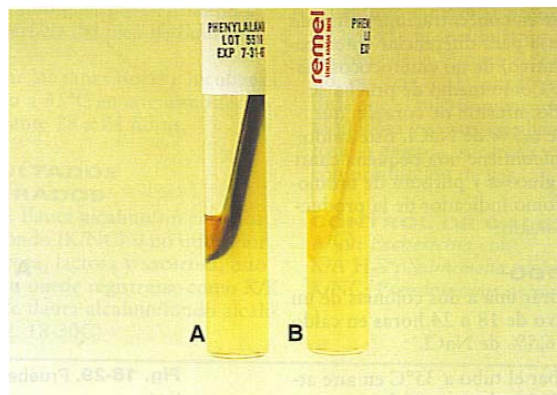


Figura N° 5. Prueba de Fenilalanina .**A.** Positiva. **B.** Negativa.

ANEXO N° 10



Figura N° 1. *Pseudomonas aeruginosa* en agar MacConkey



Figura N° 2. *Acinetobacter baumannii*

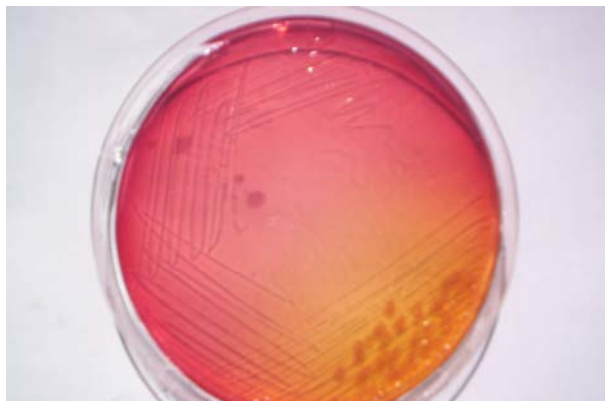


Figura N° 3. Colonias de bacilo no fermentador en agar MacConkey, típica forma en aguja de alfiler.

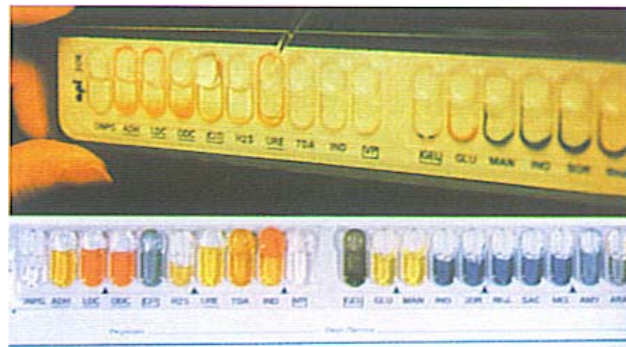


Figura N ° 4. Tiras API 20-E

ANEXO N° 11

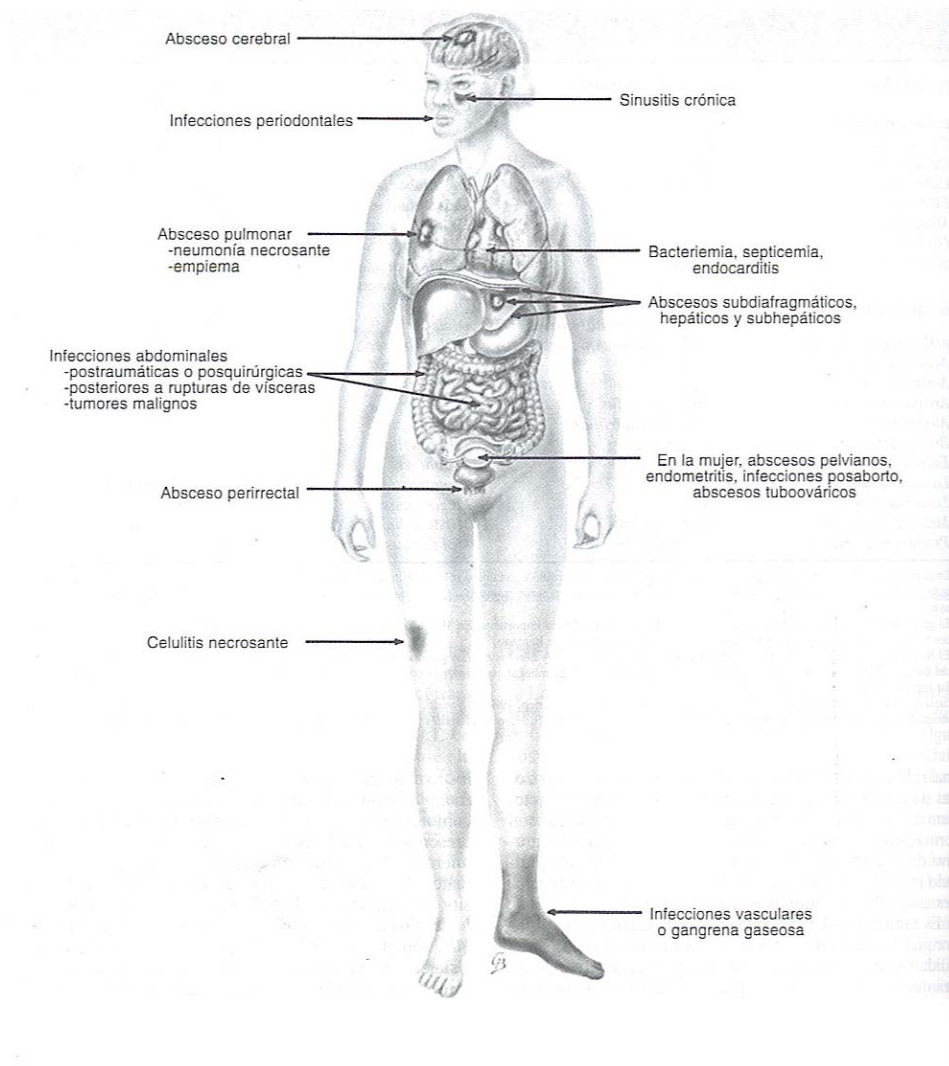


Figura N° 1. Distribución de las patologías que pueden causar los anaerobios en el hombre.

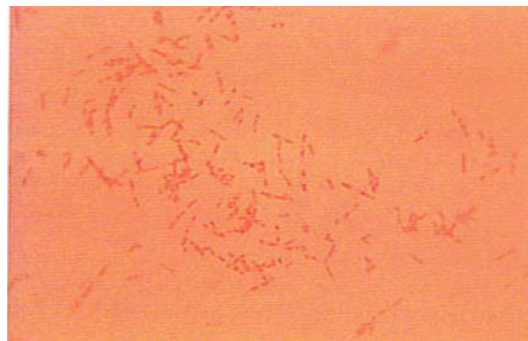


Figura N° 2. Bacteroides fragillis

ANEXO N° 12

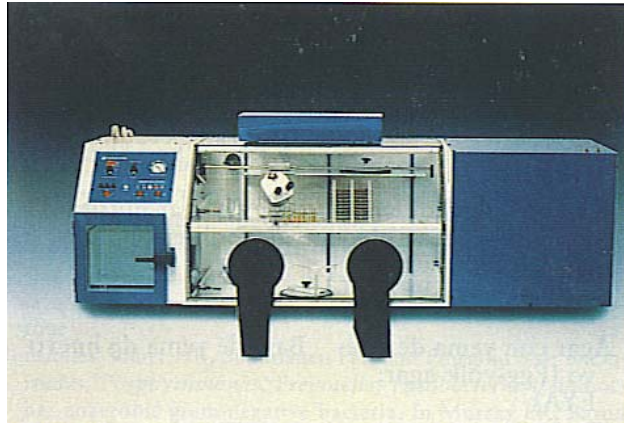


Figura N° 1. Cámara para anaerobios sin guantes.

ANEXO N° 13



Figura N° 1. *Candida albicans* en agar sangre



Figura N° 2. Colonia de *Candida albicans* en agar sangre



Figura N° 3. *Cryptococcus neoformans* en agar Sabouraud dextrosa

ANEXO N° 14



Figura N° 1.



Figura N° 2.

Figura N° 1 y 2. Preparación de medios de cultivos.

ANEXO N° 15



Figura N° 1. Bactec 9050, cámara de incubación para hemocultivos y otros líquidos orgánicos.



Figura N° 2. Bactec 9050, parte interna (colocación de muestras).

ANEXO N° 16

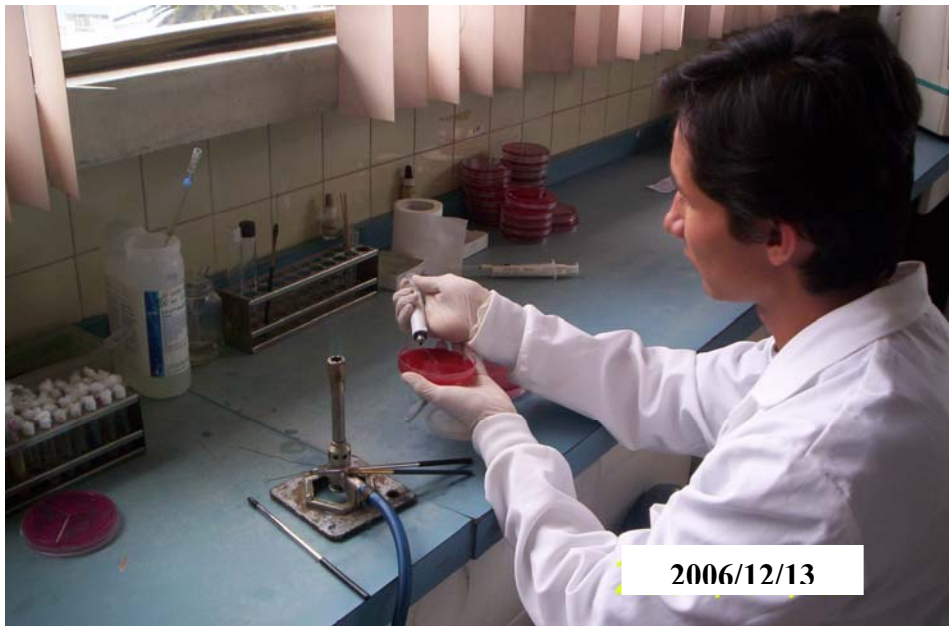


Figura N° 1. Siembra de muestra (liquido abdominal) en agar sangre.



Figura N° 2. Siembra de muestra (liquido abdominal) en agar MacKonkey.

ANEXO N° 17



Figura N° 1. Esterilización previa al cultivo del ansa calibrada.



Figura N° 2. Realización de estrías en medio de Agar sangre en caja tri-petri.

ANEXO N° 18

HOSPITAL GENERAL DE LAS FUERZAS ARMADAS

MUESTRA DE	N° H.C.	PISO
FECHA DE TOMA	PACIENTE	
EX. DIRECTO	CULTIVO	EDAD
COLORACIONES	ANTIBIOGRAMA	SOLICITA
BAAR	GRAM	C.HONGOS
		PROCEDENCIA

DIAGNOSTICO Y SIGNOS IMP
 TRATAMIENTO (ANTIBIOTICOS)

COLORACION
 CULTIVOS (CUANTITATIVO)
 NICK

THIO GL
 A.S.
 A.C.H.O
 MACK
 S.S.

TETRA

SISCOS DE SENSIBILIDAD 1			SISCOS DE SENSIBILIDAD 2			SISCOS DE SENSIBILIDAD 3		
Penicilina	Cefalotina	Eritromicina	Penicilina	Cefalotina	Eritromicina	Penicilina	Cefalotina	Eritromicina
Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol	Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol	Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol
Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina	Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina	Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina
Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT	Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT	Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT
Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto	Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto	Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto
Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina	Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina	Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina
Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina	Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina	Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina
Pip. Tazo	Acido	Rifampicina	Pip. Tazo	Acido	Rifampicina	Pip. Tazo	Acido	Rifampicina
Ticar clav	Norfloxacin		Ticar clav	Norfloxacin		Ticar clav	Norfloxacin	
Imipenem	Ciprofloxacil		Imipenem	Ciprofloxacil		Imipenem	Ciprofloxacil	

TSI RJM VPK CIS H2S URE MOT IND LIS ARG CRN FNI MLO GLU LAC MAL

Registro N°	Realizado por:	Fecha reporte
-------------	----------------	---------------

MUESTRA DE	N° H.C.	PISO
FECHA DE TOMA	PACIENTE	
EX. DIRECTO	CULTIVO	EDAD
COLORACIONES	ANTIBIOGRAMA	SOLICITA
BAAR	GRAM	C.HONGOS
		PROCEDENCIA

DIAGNOSTICO Y SIGNOS IMP
 TRATAMIENTO (ANTIBIOTICOS)

EX. DIRECTO
 COLORACION
 CULTIVOS (CUANTITATIVO)
 NICK

THIO GL
 A.S.
 A.C.H.O
 MACK
 S.S.

TETRA

SISCOS DE SENSIBILIDAD 1			SISCOS DE SENSIBILIDAD 2			SISCOS DE SENSIBILIDAD 3		
Penicilina	Cefalotina	Eritromicina	Penicilina	Cefalotina	Eritromicina	Penicilina	Cefalotina	Eritromicina
Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol	Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol	Meticilina	Cefuroxima	Cloranfenicol
Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina	Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina	Oxacilina	Ceftazidina	Vancomicina
Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT	Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT	Ampicilina	Cefotaxima	Sulfas SXT
Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto	Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto	Amp.	Gentamicina	Nitrofuranto
Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina	Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina	Amoxicilina	Amicacina	Tetraciclina
Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina	Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina	Amox.clavulá	Netilmicina	Clindamicina
Pip. Tazo	Acido	Rifampicina	Pip. Tazo	Acido	Rifampicina	Pip. Tazo	Acido	Rifampicina

XX.

CUADROS

CUADRO N° 1

IDENTIFICACIÓN DE HEMÓLISIS EN AGAR SANGRE	
α-Hemólisis	Lisis parcial de los eritrocitos que rodean una colonia, que produce un cambio de color gris-verdoso o amarronado del medio de cultivo.
β-Hemólisis	Lisis completa de los glóbulos rojos que rodean una colonia, que produce la eliminación total de la sangre del medio de cultivo.
γ-Hemólisis	Ausencia de hemólisis y, en consecuencia, ninguna alteración del medio que rodea a una colonia. Los microorganismos que no producen hemólisis se denominan habitualmente “no hemolíticos”, en lugar de γ -hemolíticos.
α-Prime	Un pequeño halo de eritrocitos intactos adyacente a la colonia, con un halo de hemólisis completa que rodea el halo de eritrocitos intactos. Este tipo de hemólisis puede confundirse con la β -hemólisis. Se denomina también “ α -hemólisis de halo amplio”

CUADRO N° 2

IDENTIFICACION PRESUNTIVA DE ESTREPTOCOCOS DE IMPORTANCIA CLINICA										
Microorganismo	Hemólisis	Bacitracina	TMS	CAMP	Hidrólisis de hipurato	PYR	Bilis esculina	Desarrollo en NaCL 6.5%	Optoquina	Solubilidad en bilis
Grupo A	β	S	R	-	-	+	-	-	R	-
Grupo B	β, ninguna	R	R	+	+	-	-	-	R	-
Grupos C, F, G	β	V	S	-	-	-	-	-	R	-
Grupos D	α, β, ninguna α, ninguna	R	R	-	V	+	+	+	R	-
Enterococos No enterococos		R	S	-	-	-	+	-	R	-
Streptococcus viridans	α, ninguna	V	S	-	V	-	V	-	R	-
Neumococos	α	V	S	-	-	-	-	-	S	+

S: sensible
R: resistente
V: variable
+: positivo
-: negativo

CUADRO N° 3

CARACTERÍSTICAS PARA LA IDENTIFICACION DE ENTEROCOCOS DE IMPORTANCIA CLINICA																				
Microorganismo	D- xilosa	Sacarosa	Sorbosa	Sorbitol	Ribosa	Rafinosa	Lactosa	Manitol	Inositol	Glucosa	L-arabinosa	Hidrólisis de hipurato	Hidrólisis de la esculina	PYR	Motilidad	Desarrollo a 45°C	Desarrollo a 10°C	Desarrollo en NaCl al 6.5%	Desarrollo en bilis esculina	Hemólisis
E. faecalis	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	γ, β
E. faecium	-	V	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-+	+ -	+	-+	+	+	+	+	γ, α
E. avium	-+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	V	+	+	-	+	-	+	+	α, γ

+ : positivo

- : negativo

+ -: mayoría de cepas positiva

- +: mayoría de cepas negativas

CUADRO N° 4

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LAS ENTEROBACTERIACEAE MAS COMUNES																				
KIA	Escherichia coli	Shigella sonnei	Shigella Boydii	Shigella Flexneri	Shigella dysenteriae	Salmonella typhi	Citrobacter freundii	Citrobacter koseri	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella oxytoca	Enterobacter aerogenes	Enterobacter cloacae	Serratia marcescens	Proteus vulgaris	Proteus mirabilis	Morganella morganii	Providencia rettgeri	Providencia stuartii	Providencia alcalifaciens	Yersinia enterocolitica
	A/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	A/A	K/A	A/A	A/A	A/A	A/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A
GAS	+	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++	+	+/-	+	+	-	-	+/-	-
H2S	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
RM	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	-	-	-
IND	+	-	-/+	-/+	-/+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+/-
CIT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-/+	+/-	-	+	+	+	-
PAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+/-	-	++	++	++	++	++	-/+	-
MOV	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+
LIS	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ARG	-/+	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
ORN	+/-	+	-	-	-	+	-/+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
MAL	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-

KIA= Kliegler
H2S = acido sulfúrico
RM= rojo de metilo
VP = Voges-Proskauer
IND= indol
CIT= citrato

PAD= fenilalanina
URE= urea
MOV= motilidad
LIS= lisina
ARG= arginina
ORN= ornitina
MAL= malonato

++= fuerte reacción positiva
+ = 90% o mas de cepas positivas
- = 90% o mas de cepas negativas
-/+= 50-90% de cepas negativas
+/-= 50-90% de cepas positivas

CUADRO N° 5

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LOS BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES MAS COMUNES									
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Pseudomona fluorescens</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter jejunii</i>	<i>Acinetobacter lwojii</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Flavobacterium odoratum</i>	<i>Achromobacter</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
ESC	-	-	-	-	-	+	-	+	V
URE	V	V	-	-	-	-	+	+	V
LIS	-	-	-	-	-	-	-	-	+
ARG	+	+	+	+	-	-	-	-	-
MAN	V	+	+	-	-	-	-	+	+
LAC	-	-	+	-	-	-	-	-	+
MAL	V	V	+	-	-	-	-	-	+
GLU	+	+	+	-	-	-	-	+	+
XIL	V	+	+	-	-	-	-	+	-
MOV	+	+	-	-	-	-	-	+	+
IND	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OXI	+	+	-	-	-	+	+	+	-

ESC: bilis esculina

URE: urea

LIS: lisina

ARG: arginina

MAN: manitol

LAC: lactato

MAL: malonato

GLU: glucosa

XIL: xilosa

MOV: motilidad

IND: indol

OXI: oxidasa

-: 90% o más de cepas negativas

+: 90% o más de cepas positivas

V: 11-89% de cepas positivas