

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**



**“FRECUENCIA DE BACTERIAS AISLADAS EN LÍQUIDOS PERITONEALES DE
PACIENTES ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL
NACIONAL DE NIÑOS BENJAMÍN BLOOM, DE MARZO DE 2009 A MARZO DE
2010”**

**SEMINARIO DE GRADUACIÓN PREVIA OPCIÓN AL TÍTULO DE LICENCIADO
EN LABORATORIO CLÍNICO**

PRESENTADO POR:

Escalante Ramírez, Roxana Andrea

Padilla Tenorio, Jennie Carolina

ASESOR:

LIC. LUIS ROBERTO PANIAGUA CASTRO

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO DE 2010.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Rector.

Msc. Rufino Quezada Sánchez.

Vicerrector Académico.

Arq. Miguel Ángel Pérez Ramos.

Vicerrector Administrativo.

Mae. Oscar Noé Navarrete.

Decana de la Facultad de Medicina.

Dra. Fátima Trinidad Valle de Zúñiga.

Vicedecano de la Facultad de Medicina.

Lic. Julio Ernesto Barahona.

Directora de la Escuela de Tecnología Médica.

Licda. Sofía Alvarado de Cabrera.

Director de la Carrera de licenciatura en Laboratorio Clínico.

Lic. Luis Roberto Paniagua Castro.

Agradecimiento

Deseo agradecer grandemente a mi Dios padre que me iluminó a lo largo de toda mi vida desde el primer día de escuela hasta el final de mi carrera universitaria con la ayuda de María santísima poniendo mi fé y fortaleza, la bendición que diariamente me han dado al salir adelante con las dificultades que se presentan.

Agradezco a mi madre Ethel Celina Ramírez, que ha sido, es y será unos de los grandes pilares que tengo en mi vida y de la cual me siento orgullosa, el apoyo infinito que me ha brindado único. Mil gracias mamá.

Agradezco a mi familia por apoyarme a seguir adelante.

A mis amigas, compañeras por estar a mi lado en el momento indicado en las buenas y malas.

A las licenciadas (os) del Hospital Benjamín Bloom del área del banco de sangre y laboratorio clínico gracias por su entusiasmo, apoyo, y el estar dispuestas a compartir su conocimiento con su experiencia.

Lastimosamente una hoja no me basta para enumerar a todas las personas que de alguna manera me han ayudado brindándome su apoyo, gracias. Que Dios me los (as) bendiga a cada uno.

Roxana Andrea Escalante Ramírez

Agradecimiento

Le agradezco a Dios porque gracias a Él he alcanzado el término de mi carrera , el principio de un nuevo futuro lleno de éxitos dedicados a cada uno de aquellos que permanecieron a mi lado dándome su apoyo como lo son mis padres gracias por su sacrificio, amor y paciencia gracias al resto de mi familia entera que me apoyo; gracias a mis amigas y amigos que estuvieron a mi lado en todo momento dándome aliento para seguir adelante en especial a mi amiga Andrea quien fue la mejor de las compañeras en el camino gracias por tu paciencia cariño y esfuerzo, a mis amigos lejanos que con sus palabras me llenaron de fuerzas para seguir adelante; a todos los catedráticos quienes nos ayudaron a formarnos a convertirnos en los mejores profesionales de este país , gracias Dios los Bendiga a todos y cada uno de los que estuvieron a mi lado; este es el primero de tantos éxitos que pasaremos juntos.

Jennie Carolina Padilla Tenorio

INDICE

Contenido	Pág.
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. MARCO TEÓRICO.....	4
4. DISEÑO METODOLÓGICO.....	22
5. RESULTADOS.....	23
6. ANÁLISIS.....	27
7. CONCLUSIONES.....	29
8. RECOMENDACIONES.....	30
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
10. ANEXOS.....	34

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La población pediátrica que es asistida por problemas renales y solicitan cuidados constantes ingresan a los servicios de nefrología en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom. Al recurrir a procedimientos como la diálisis peritoneal el paciente corre el riesgo de contraer una infección bacteriana sino se realiza con los cuidados necesarios ya que el líquido peritoneal es un líquido de derrame estéril. Estas muestras se obtienen generalmente por punción percutánea, por lo tanto, se debe realizar una rigurosa asepsia de la zona que se va a puncionar, para evitar la contaminación de la muestra con flora cutánea y minimizar el riesgo de infección del paciente asociado al procedimiento, pero la inadecuada toma y manejo de muestra o una mala asepsia puede causar un arrastre de bacterias tanto de la flora normal como del ambiente hospitalario.

Entre estas bacterias podemos mencionar las siguientes:

- *Pseudomona aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Enterobacter cloacae*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Enterococcus faecium*
- *Escherichia coli*
- Entre otras.

Estos son algunos de los agentes microbianos que afectan comúnmente a estos pacientes durante el procedimiento de la diálisis. La diálisis peritoneal es un procedimiento que permite depurar líquidos y electrolitos en pacientes pediátricos que sufren insuficiencia renal aguda y crónica de distinta etiología y en otras patologías como alteraciones metabólicas e intoxicaciones. Este procedimiento se efectúa en pacientes con problemas renales. En la cual esta patología se manifiesta como un trastorno de la función renal caracterizado por una alteración en el filtrado glomerular y, por consiguiente, por una incapacidad de los riñones para excretar los productos de

desecho nitrogenados, conservar los electrólitos y conseguir una adecuada concentración de la orina.

Al obtener el líquido peritoneal por medio de la diálisis, estos son llevados al laboratorio clínico para ser analizados mediante un cultivo y un estudio citoquímico; obteniendo así un mejor diagnóstico que ayude al médico en proporcionar un adecuado tratamiento al paciente y al mismo tiempo llevar un control de los microorganismos más frecuentemente aislados en el laboratorio de dicho centro hospitalario, con el fin de mejorar la calidad de la toma y manejo de la muestra.

Basándonos en lo expuesto anteriormente, se formulan las siguientes interrogantes:

¿Cuál es la bacteria más frecuentemente encontrada en el líquido peritoneal en pacientes que son atendidos en el servicio de nefrología del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom de Marzo de 2009 a Marzo de 2010?

¿Qué sexo se ve más afectado ante la presencia de agentes bacterianos?

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Investigar las bacterias que se encuentran con más frecuencia en líquido peritoneal según el sexo de los pacientes que son atendidos en el servicio de nefrología del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom de Marzo de 2009 a Marzo de 2010.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la bacteria más frecuentemente encontrada en el líquido peritoneal en pacientes de nefrología del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.
- Identificar que sexo se ve más afectado ante la presencia de agentes bacterianos encontrados en el líquido peritoneal de pacientes de nefrología del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

3. MARCO TEÓRICO.

3.1 PERITONEO

El peritoneo (ver anexo 1) es una membrana serosa, brillante, lisa que reviste la pared abdominal, donde se le conoce como *peritoneo parietal* y se refleja desde la pared hacia varios órganos, cuyas caras cubre una extensión variable. La cubierta peritoneal que cubre los órganos se denomina *peritoneo visceral*. Forma una parte integral de la capa externa o serosa de muchos órganos. El tejido conectivo extraperitoneal, externo al peritoneo parietal, junto con los repliegues peritoneales que van a los órganos forman parte de la capa serosa. Algunas de las vísceras abdominales, como los riñones, se encuentran sobre la pared abdominal posterior, cubiertas por peritoneo solo en sus caras anteriores. La disposición del peritoneo es tal que se forma un saco de doble hoja, comparable en este aspecto a la pleura y al pericardio. La cavidad peritoneal normalmente se encuentra vacía, excepto por una película delgada de líquido que conserva las superficies húmedas. Los órganos están dispuestos en forma tan compacta que la cavidad es normalmente solo un espacio potencial de luz capilar. Las dos funciones más importantes del peritoneo son disminuir el roce y ofrecer resistencia a las infecciones. Una función menos fundamental es el depósito de grasa. El peritoneo exuda líquido y células en respuesta a una lesión o una infección (peritonitis) y tiende a localizar la infección separándola. (4)

Este peritoneo va a conformar así esta cavidad peritoneal como el espacio extravascular más grande que hay, y además otra característica de esta serosa es que es la más extensa que existe en todo el organismo, y como en toda serosa en este caso también se divide en un peritoneo parietal y un peritoneo visceral, más o menos asemeja a toda la superficie de la piel, esto quiere decir que la superficie del peritoneo es más o menos 1.72 m². Y esto hay que tomarlo en cuenta también desde el punto de vista funcional por lo siguiente: el mesotelio: (que es una capa de células que está tapizando toda la parte medial del peritoneo) es responsable de muchos aspectos (anatómicos y funcionales quirúrgicos, o de cualquier patología médica que llegue a una inflamación del peritoneo); Este mesotelio por ejemplo es el encargado de la producción de líquido

peritoneal, este tiene una capacidad de regenerar ; cuando se a dado por ejemplo una apendicitis complicada, una perforación de una víscera hueca o una peritonitis severa; este mesotelio es el que va a dictaminar las complicaciones posteriores de este problema peritoneal(12)

3.2 FISIOLÓGÍA DEL PERITONEO

El peritoneo es en esencia una membrana dializadora y constantemente secreta y absorbe líquido seroso.

Es una membrana muy permeable por la que atraviesan agua, electrólitos, sustancias tóxicas endógenas y exógenas.

El peritoneo mediante la exudación acompañada o no de trasudación, la absorción, la fagocitosis y el bloqueo establecido por la formación de adherencias se defiende de la agresión y utiliza sobre todo sus funciones.

La exudación se establece gracias a la riquísima circulación sanguínea, se produce vasodilatación acompañada de aumento de permeabilidad con extravasación de plasma, elementos corpúsculares de la sangre y coloides.

La resorción y absorción se produce mayormente en el abdomen superior sobre todo en la región diafragmática y en el delantal de los epiplones, siguen luego el mesenterio, el peritoneo visceral y menos en el peritoneo parietal.

Ciertas circunstancias modifican la absorción. El aumento de la presión intraabdominal la favorece, lo mismo que el calor y la hiperemia, mientras que el frío y la vasoconstricción la dificultan. El peristaltismo y el movimiento la aumentan, de ahí el peligro de alimentación, los purgantes, los enemas y la deambulación, cuando la reabsorción supone el paso de productos nocivos o bacterias tóxicas.

PERITONITIS.- Se define peritonitis como el proceso inflamatorio general o localizado de la membrana peritoneal secundaria a una irritación química, invasión bacteriana, necrosis local o contusión directa.

3.3 ETIOLOGÍA DE LA PERITONITIS

La inflamación del peritoneo puede producirse por:

- a. Llegada de gérmenes a la cavidad abdominal: por infecciones agudas como son la apendicitis, colecistitis, úlceras perforadas, diverticulitis, pancreatitis, salpingitis, infecciones pélvicas, etc. Por perforaciones agudas debidas a cuadros infecciosos o traumáticos o estrangulación o infarto intestinal.
- b. Presencia de sustancias químicas irritantes: ej. Pancreatitis.
- c. Por la presencia de cuerpos extraños: gasa, talco, almidón, etc.
- d. Por la presencia de sustancias raras (endógenas o exógenas): escape anastomótico, contaminantes como sangre, bilis, orina, etc.

Es importante anotar que dependiendo de la naturaleza de la sustancia habrá mayor o menor reacción peritoneal, así de mayor a menor, tenemos: líquido pancreático, líquido intestinal, sangre, bilis y orina.

Los gérmenes pueden invadir el peritoneo por tres vías:

1. **Vía Directa o local:** En donde la contaminación puede tener lugar por:
 - a. Ruptura de víscera hueca de causa inflamatoria o traumática
 - b. Ruptura de proceso séptico asentado en cualquier víscera,
 - c. Invasión de la serosa.
2. **Vía sanguínea.**
3. **Vía linfática.(11)**

3.4 RIÑONES

Los riñones (en griego nephros; en latín, *ren*, de aquí los adjetivos nefríticos y renal) y los uréteres son parte del sistema urogenital, se encuentran en la pared abdominal posterior, a cada lado de la columna vertebral. Los riñones conservan el equilibrio iónico de la sangre y la pérdida de ambos es mortal.

Los riñones (ver anexo 2) son un par de órganos en forma de frijol, de color café rojizo, cubiertos por una delgada cápsula fibromuscular brillante que se puede quitar fácilmente de un riñón normal, pero no de uno enfermo. Cada riñón tiene *caras anterior y posterior, bordes interno y externo, y polos superior e inferior*. El borde interno presenta una escotadura en el hilio, el cual conduce al *seno renal*. Los vasos renales principales penetran y salen del hilio. Los riñones miden aproximadamente de 11 a 13 cm. de largo, siendo el izquierdo algo más largo y más grande que el derecho.

ESTRUCTURA.

Cada riñón contiene un millón o más de *túbulos renales* epiteliales (o nefronas). El riñón está compuesto por una pálida corteza externa y una oscura medula interna. La corteza está formada por corpúsculos renales, parte de los túbulos secretores y las porciones iniciales de los túbulos colectores. La médula se compone de *pirámide de malpighi* (renales), cada una de las cuales tiene túbulos colectores y parte de los túbulos secretores. La *papila*, o vértice de cada pirámide, se adapta a la forma de copa de un cáliz menor el cual está perforado por los túbulos colectores. (4)

NEFRONA

Cada uno de los túbulos renales y el glomérulo correspondiente. Constituyen una unidad (**nefrona**). El tamaño de los riñones en las diversas especies se determina en gran medida por la cantidad de nefronas contenida en dichos riñones; cada riñón humano contiene aproximadamente 1.3 millones de nefronas. El glomérulo, con un diámetro aproximadamente de 200 μm , se forma por la invaginación de un conjunto de pequeños capilares en el interior del extremo y dilatado de la nefrona (cápsula **de Bowman**) (10)

Cada nefrona está constituida por el glomérulo renal, el asa de Henle y los túbulos renales. Cada glomérulo está conformado por un conglomerado de capilares en forma de ovillo cubiertos por la cápsula de Bowman. Tanto los glomérulos como las porciones curvas de los túbulos renales se localizan en la corteza renal. La medula renal está constituida por las asas de Henle y los túbulos colectores. (3)

3.5 INSUFICIENCIA RENAL

Insuficiencia renal, trastorno de la función renal caracterizado por una alteración en el filtrado glomerular y, por consiguiente, por una incapacidad de los riñones para excretar los productos de desecho nitrogenados, conservar los electrolitos y conseguir una adecuada concentración de la orina. La insuficiencia renal puede ser aguda o crónica. (Microsoft ® Encarta ® 2006)

Insuficiencia Renal Aguda

La insuficiencia renal aguda (IRA) es un síndrome clínico que se produce cuando un rápido deterioro de la función renal se acompaña de la incapacidad renal para mantener una correcta homeostasis hidroeléctrico. El 2-3% de los niños que acuden a las consultas de pediatría y el 8% de los lactantes de las unidades de cuidados intensivos neonatales sufren IRA. (2)

3.6 Diálisis

Proceso de separación de sustancias coloides y cristalinas en solución aprovechando la diferencia en su tasa de difusión a través de una membrana semipermeable. Procedimiento médico cuyo objeto es eliminar ciertos elementos de la sangre o linfa en virtud de la diferencia en sus tasas de difusión a través de una membrana semipermeable externa o, en el caso de la diálisis peritoneal, a través del peritoneo. (3)

3.7 Diálisis Peritoneal

Se reserva principalmente a los casos de IRA que se presentan en los neonatos y lactantes, aunque también puede ser empleada en niños y adolescentes de todas las edades. La solución hiperosmolar utilizada se infunde en la cavidad peritoneal través de un catéter de diálisis peritoneal percutáneo o colocado quirúrgicamente (ver anexo 3). El líquido introducido se mantiene en la cavidad peritoneal durante 45 – 60 minutos y a continuación es drenado del paciente por gravedad (manualmente o ayudándose de una bomba), una vez llevado a cabo el recambio hidroelectrolítico. Los ciclos se repiten durante 8-24 horas/día (2)

3.8 TIPOS DE DIÁLISIS

La diálisis peritoneal la podemos dividir en dos grandes grupos: diálisis peritoneal aguda, que se utiliza para solucionar situaciones de urgencia que en principio no tienen riesgo de cronificarse, y diálisis peritoneal crónica, que se utiliza en la insuficiencia renal crónica.

Este último grupo lo podemos dividir en otros dos tipos de diálisis peritoneal: diálisis peritoneal ambulatoria continua (DPAC) y diálisis peritoneal en ciclos continuos (DPCC).

A. Diálisis Peritoneal Intermitente o Aguda (DPI o DPA):

- Es realizada por una enfermera en una unidad de cuidados intensivos generalmente
- La duración óptima de este tratamiento es de 48-72 horas, ya que se debe usar en procesos agudos que esperamos solucionar con esta técnica
- Se individualizan los líquidos de diálisis y los tiempos de permanencia y drenado
- Se puede realizar de forma manual o con un aparato de ciclos. La máquina de ciclos controla de forma automática los tiempos de permanencia, y tiene una serie de alarmas.

B. Diálisis Peritoneal Crónica: puede realizarse en un centro de día hospitalario o en el domicilio.

-Diálisis Peritoneal Ambulatoria Continua (DPAC)

-Se utiliza con pacientes no hospitalizados

-La puede realizar el propio paciente, y tiene una duración de 7 días, durante las 24 horas

-Consiste en infundir líquido de 3-5 veces al día, y permanecerá en el interior de la cavidad peritoneal de 4 a 8 horas. Además, suele haber un pase nocturno de mayor duración que el resto. Se utilizan bolsas y tubos desechables en cada drenaje, y la infusión y drenado se realizan de forma manual, aprovechando la fuerza de la gravedad. Es más parecida a la función renal ya que es un proceso continuo

-Diálisis Peritoneal en Ciclos Continuos o Automatizada (DPCC):

- Utiliza un aparato de ciclos o cicladora (Ver Anexo 4), que funciona abriendo y cerrando sistemas, y controla el volumen que se introduce y el tiempo.
- Se realiza generalmente mientras el paciente duerme, de modo que permite más tiempo libre durante el día.
- Existen varias modalidades de este tipo de diálisis: sesiones sólo 2-3 veces por semana en peritoneos de alta permeabilidad, sesiones en las que durante el día el peritoneo está vacío y en otras lleno, etc.
- Este método requiere menos desconexiones del sistema y por tanto, disminuye el riesgo de infección.

INDICACIONES

La diálisis peritoneal en pediatría puede utilizarse principalmente en situaciones de insuficiencia renal, de origen primario o secundario (Ej. cirugía cardíaca) y en otras situaciones.

Insuficiencia renal aguda con oligoanuria (diuresis menor de 0,5 cc/kg/h), que no responde a diuréticos y que puede ir acompañada de balance positivo con:

- hipervolemia
- hipertensión

- insuficiencia cardiaca
- derrame pleural
- anasarca

Alteraciones electrolíticas y del pH sanguíneo producidas o no por una insuficiencia renal aguda:

- acidosis metabólica severa
- hiperpotasemia, hipernatremia, hipercalcemia
- nitrógeno ureico elevado
- encefalopatía urémica (acompañada de estupor, coma o convulsiones)
- Síndrome hemolítico-urémico
- Hipotermia severa
- Intoxicaciones graves por tóxicos dializables a través del peritoneo. (Tabla 1:tipos de tóxicos dializables a través del peritoneo) Se considera que un tóxico es dializable cuando es hidrosoluble y tiene poca afinidad por las proteínas del plasma. Los tóxicos liposolubles o que se unen fuertemente a proteínas plasmáticas no son adecuadamente dializados por este método.

TÓXICOS DIALIZABLES	NO	TÓXICOS DIALIZABLES
Paracetamol		Aspirina y salicilatos
Benzodiacepinas		Heroína
Antidepresivos tricíclicos		Alcohol etílico
Difenilhidantoína		Metanol
Ácido valproico		Etienglicol
Anfetaminas		Fenobarbital
Carbamacepina		Pentobarbital
Digoxina		Paraldehido
Hidralacina		Herbicidas
Amanita faloides		Flúor
Hierro		Cobre
Litio		

Tabla 1. Tipos de Tóxicos dializables a través del peritoneo

CONTRAINDICACIONES

No hay contraindicaciones absolutas, pero se valorará especialmente su elección en caso de:

- Alteraciones en la integridad de la pared (onfalocele, gastrosquisis...)
- Hernia diafragmática o cirugía del diafragma o fístula pleuro-peritoneal o intraperitoneal
- Cirugía abdominal reciente
- Infección o celulitis de la pared abdominal
- Peritonitis
- Hemorragia intraperitoneal severa
- Intoxicación masiva o catabolismo rápido (no recomendable porque la diálisis actúa de forma más lenta)
- Pacientes en shock

PROCEDIMIENTO

INSERCIÓN DEL CATETER

El éxito de la técnica muchas veces dependerá de la adecuada colocación del catéter en el peritoneo. La colocación tunelizada más habitual es en hipocondrio derecho, con un trayecto tunelizado que atraviesa el peritoneo hasta llegar al hemiabdomen inferior izquierdo. (Ver Anexo 5: situación del catéter en abdomen y Anexo 6: punto de entrada del catéter). Cuando el catéter no es tunelizado, se localiza el punto de inserción en la línea media, aproximadamente 2 cms por debajo del ombligo, excepto en lactantes de menos de 4 meses, en los que evitaremos este lugar (especialmente en recién nacidos por riesgo a pinchar arterias umbilicales) y se colocará en la línea que une el ombligo con la espina iliaca anterosuperior izquierda, en el tercio interno o medio, a 2 cms por encima del ombligo.

Tipos de Catéteres

El catéter de diálisis peritoneal moderno fue creado por Palmer y Quinton, y remodelado en 1968 por Tenckhoff y Schecter. Es un tubo de silicona con múltiples orificios distales, y que puede terminar de forma recta o enroscada. Su función es comunicar la cavidad peritoneal con el exterior, atravesando para ello la pared abdominal (Ver Anexo 7: situación del catéter). De este modo, podemos dividir al catéter en 3 partes: intraperitoneal, intramural o subcutánea y externa.

Hay catéteres de distintos materiales (silicona y poliuretano) y diseños (recto, enroscado, en cuello de cisne) (Ver Anexo 8: tipos de catéteres). Pero el catéter Tenckhoff recto de silicona es el más utilizado.

Implantación

Debe ser colocado por personal experto y que conozca el funcionamiento de la diálisis peritoneal. Puede ser insertado tanto por cirujanos como por nefrólogos.

La inserción se puede realizar mediante dos técnicas:

- Quirúrgica: técnica abierta, que realiza una disección por planos hasta llegar al peritoneo, y se realiza en quirófano.
- Médica: es un método ciego que consiste en realizar una disección de la piel y el tejido subcutáneo, a través del cual se introduce el catéter con una guía. Se puede visualizar la situación del catéter con un laparoscopio, y una vez colocado, existe la posibilidad de tunelizarlo. Se puede realizar el proceso de otra cirugía para colocar el tubo de esta forma (ej: cirugía cardiaca).

Finalmente, el catéter es fijado con puntos de sutura a la piel.

Para comprobar su correcta localización, se realizará una radiografía de tórax-abdomen. **(13)**

Insuficiencia Renal Crónica

La insuficiencia renal crónica (IRC) se define como la disminución irreversible de la filtración glomerular. La prevalencia en la población pediátrica es de alrededor de 18 casos por millón.

Etiología

En los niños, la IRC puede deberse a enfermedades renales congénitas, adquiridas, hereditarias o metabólicas, las causas subyacentes se relacionan con la edad a la que se detecta la IRC. Las causas más frecuentes de IREC en niños menores de 5 años son las alteraciones congénitas como hipoplasia renal, la displasia renal.

En niños mayores de 5 años, las causas más frecuentes de IRC son las enfermedades adquiridas (diversos tipos de glomérulo nefritis) o hereditarias (2)

3.9 LIQUIDO PERITONEAL:

Los derrames de líquido en la cavidad peritoneal pueden formarse sobre la base de ultrificación del plasma. (5) cuya formación depende del equilibrio entre la presión hidrostática capilar, la presión oncótica plasmática, la permeabilidad capilar y resorción linfática. (6) Tales ultrafiltrado se clasifican comúnmente como trasudados y exudados. Un trasudado es un derrame provocado por factores mecánicos que influyen en la formación o resorción de líquido, por ejemplo, reducción de la albúmina del plasma o incremento de la presión venosa, o ambas cosas. Un exudado es un derrame provocado por una lesión de los recubrimientos del mesotelio, por ejemplo tuberculosis, infección bacteriana o micótica, neoplasia, enfermedad reumática o lupus eritematoso sistémico. En el líquido peritoneal, los criterios de laboratorio recomendados para distinguir los trasudados de los exudados varían. Algunos autores utilizan un nivel de proteínas de 2 g/dl Para distinguir los trasudados de los exudados. El estudio habitual del derrame peritoneal incluye en general la determinación de su aspecto general, nivel total de proteínas, recuento de eritrocito, recuento leucocitario, recuento diferencial y estudio microscópico de extensión coloreada con Wright, tinción de Gram, cultivo y estudio citológico. Otros estudios que pueden resultar útiles de determinada circunstancias

comprenden la determinación de glucosa (enfermedad reumatoidea o infección sospechadas), amoníaco (líquido peritoneal con sospecha de necrosis intestinal o perforación, diagnóstico diferencial de derrame y extravasación urinaria), creatinina (diagnóstico diferencial del derrame peritoneal y extravasación urinaria). (5)

Examen Macroscópico

El líquido peritoneal normalmente es transparente, de color amarillo pálido y escaso (menos de 50 ml.). El líquido turbio o empañado sugiere peritonitis debido a apendicitis, pancreatitis, intestino estrangulado o infartado, intestino desgarrado después de un traumatismo o infección bacteriana primaria.

La presencia de líquido color verdoso se ha descrito en los casos de úlcera duodenal perforada, intestino perforado, colecistitis, vesícula biliar perforada o pancreatitis aguda.

El líquido lechoso es raro y puede ser debido a un derrame quiloso o pseudoquiloso. (5) Los derrames quilosos verdaderos pueden estar causados por una lesión o un bloqueo del conducto torácico, debido a linfoma, carcinoma, infestación parasitaria, adherencia o cirrosis hepática. (6)

Examen Microscópico

Los recuentos leucocitarios, eritrocitario y diferencial a menudo se consideran parte del examen habitual de los líquidos peritoneales. Normalmente se utiliza líquido no diluido; sin embargo, cuando estos contienen mucha sangre, puede ser necesario hemolizar los eritrocitos por dilución con ácido acético al 3% antes de realizar un recuento leucocitario. Todo recuento de eritrocito superior a 100.00/ μ l se considera positivo, lo cual recuerda con la presencia de una cantidad de más de 20 a 25 μ l de sangre total en la cavidad peritoneal.

Examen Microbiológico

La tinción acidorresistente y cultivo solo resulta positivo en alrededor de 20 a 50% de los derrames tuberculosos. Esta incidencia puede incrementarse mediante técnicas especiales que utilizan el sedimento de 100 a 500 ml. de centrifugado (5). La sensibilidad de la tinción de Gram es solo del 25% al 50%. (6)

3.10 CULTIVO

1. Recepción de la muestra

Generalmente la muestra debe ser tomada en tubo estériles y de tampón de roscas, debe de estar identificada correctamente, con el número de registro del paciente y la boleta debe indicar el tipo de muestra, la zona anatómica donde a sido tomada, nombre completo del paciente, edad, sexo, servicio, cama y diagnóstico con letra legible.

Se anota en el libro de registro de microbiología para darle un número correlativo para la siembra.

Tiempo máximo para procesar la muestra debe ser no mayor de una hora después de ser tomada y recibida en el laboratorio.

2. Siembra Inicial

Los líquidos peritoneales deben sembrarse en los medios de Agar Sangre de carnero, Agar Chocolate, Agar MacConkey y Caldo infusión Cerebro Corazón, además se les hace una Coloración de Gram (ver anexo 12).

El tipo de siembra que se realiza es por agotamiento, inoculando primero el Agar Chocolate, la incubación para el Agar Sangre de carnero y Agar Chocolate es un anaerobio (jarra y candela) a 35°C por 48 horas, MacConkey y Caldo en aerobiosis.

Técnica coloración de Gram (ver anexo 12)

3. Lectura Inicial

Se realiza de 18-24 horas de incubación.

Si no hay crecimiento incubar 24 horas más.

Si hay colonias aisladas se procede la identificación del microorganismo y sensibilidad en forma automatizada (ver anexo 14).

Si hay más de un tipo de colonias se procede a aislarlas para luego identificar y hacer sensibilidad.

Si el caldo presenta turbidez hacemos un subcultivo en Agar Chocolate, Agar Sangre y MacConkey e incubamos a 35°C

4. Procedimientos de identificación

En el caso de *Enterobacteria* y *Staphylococcus*, se realiza una identificación automatizada (Vitek Sistem Biomerieux ver anexo 13). Como también una identificación manual para el caso de *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Neisserias*.

5. Segunda Lectura

Se realiza a las 48 horas de incubación. Si no hay crecimiento se procede a reportar como negativo a las 48 horas de incubación. Si hubiere crecimiento se procede a identificación o aislar dicho microorganismo. En el caso de tener microorganismo se hace identificación y sensibilidad por método automatizado o manual.

Identificación automatizada. (ver anexo 13 y 14)

Identificación manual como lo es bioquímica sensibilidad por método Kirby-bauer, Taxo A, Taxo P y su sensibilidad o utilización de factores, biotipo, serotipificación y Betalactamasa.

6. Reporte Final

De cultivo incluye:

Identificación es decir, nombre de la bacteria

Sensibilidad o antibiograma, ya sea kirby-bauer o automatizado.

7. Frotis y Coloración de Gram

Identificación de las bacterias observadas en el microscopio y que corresponda con la morfología del microorganismo reportado.

3.11 CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS.

DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CATEGORÍAS Y GRUPOS DE BACTERIAS

Hay dos grupos distintos de microorganismos procariotas: eubacterias y arqueobacterias. Las eubacterias comprenden a las bacterias más comunes, aquellas con las cuales la mayoría de las personas está familiarizada. Las arqueobacterias no producen peptidoglucano, lo que es una diferencia entre ellas y las eubacterias típicas. También difieren de las eubacterias por habitar en ambientes extremos (Ej. temperatura, pH bajo), y efectuar reacciones metabólicas pocas comunes. Dichas categorías se basan en las características de la pared celular: eubacterias gramnegativas con paredes celulares, eubacterias grampositivas de paredes celulares, eubacterias carentes de paredes celulares. (9)

Dentro de las bacterias gramnegativas están los bacilos gramnegativos que pertenece a la familia de Enterobacterias, son aislamientos bacterianos hallados con más frecuencia en muestras de laboratorio de microbiología. Ampliamente dispersos en la naturaleza, estos microorganismos se encuentra en agua, suelos y plantas.

Género Escherichia

Es un bacilo gramnegativo anaerobio facultativo, prevalente en la flora intestinal del hombre y animales de sangre caliente.

Morfología son bacilos rectos de 1-1,5 μm de ancho por 2-6 μm de largo. Se presentan aislados o de pares, gramnegativos y pueden o no poseer cápsula. Su motilidad está dada por sus flagelos (peritricos) pero también pueden ser inmóviles. **(10)**

Género Pseudomonas

Las *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos, estrictamente aerobios; catalasa positivas, generalmente oxidasa positiva, con metabolismo respiratorio y nunca fermentativo, cuya motilidad está facilitada por un flagelo polar.

Patogénesis

La especie que causa actualmente mayor morbilidad y mortalidades *Pseudomonas aeruginosa*. Es casi omnipresente en el ambiente hospitalario y se halla en todas partes donde haya humedad. El organismo es más resistente que la mayoría de las bacterias vegetativas a muchos desinfectantes y agentes microbianos. **(6)**.

Género Staphylococcus

Son células esféricas grampositivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uva; crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Los *Staphylococcus* patógenos casi siempre causan hemólisis, coagulación del plasma y producen varias enzimas y toxinas extracelulares. El tipo de envenenamiento alimentario es causado por una enterotoxina termoestable de los estafilococos. El género estafilococo contiene al menos 30 especies. Las tres de importancia clínica son: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. El primero es coagulasa positivo, es un patógeno importante para los humanos. En el cultivo los estafilococos crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o

microaerobias. Crecen con mayor rapidez a 37°C, sobre los medios sólidos las colonias son redondas, lisas prominentes y brillantes. El *Staphylococcus aureus* comúnmente forma colonias de color gris o amarillo dorado intenso. (7)

Género *Klebsiella*

Pertenece a la familia de Enterobacterias, son bacilos gramnegativos, sus colonias son grandes, mucoides y rojas habitualmente con la difusión del pigmento rojo hacia el agar circundante lo que indica que son lactosa positiva y producen ácidos. Las especies de *Klebsiella* son inmóviles y no carboxilan ornitina. La *Klebsiella pneumoniae* se recupera con mayor frecuencia de muestras clínicas y puede causar una forma clásica de neumonía primaria. Puede causar infecciones extrapulmonares entre ellas enteritis, meningitis, infecciones urinarias y septicemia. (8)

Género *Enterobacter*

Dado que las numerosas cepas de este género producen gran cantidad de gas, tiene las características generales del género de *Klebsiella* pero pueden diferenciarse de estas porque son móviles y con ornitina positiva. *E. aerogenes* y *cloacae* son las especies que se hallan con más frecuencia en muestras clínicas. Están ampliamente distribuidas en el agua, suelo y vegetales forman parte de la flora entérica comensal y no se cree que causen diarrea. También se asocian con una variedad de infecciones oportunistas entre ellas vías respiratorias, heridas operatorias en ocasiones causan septicemia y meningitis. (8)

Stenotrophomonas maltophilia

Stenotrophomonas maltophilia (anteriormente denominado *Pseudomonas maltophilia* y *Xanthomonas maltophilia*) es un bacilo gramnegativo no fermentador, oxidasa negativa, no esporulado, móvil, aerobio estricto, con una temperatura óptima de crecimiento es 35°C y cuyas colonias son lisas, brillantes y de color blanco a amarillento. Cuyo hábitat principal es el acuático, si bien se encuentra en el suelo, en las plantas y en los animales y actualmente se considera un patógeno nosocomial emergente. *Stenotrophomonas*

maltophilia se ha aislado de una gran variedad de superficies y objetos hospitalarios. Aunque *Stenotrophomona maltophilia* es un microorganismo con limitada virulencia, presenta resistencia intrínseca a múltiples antimicrobianos y puede producir un amplio espectro clínico de infecciones, principalmente en pacientes predispuestos. (14)

Aeromonas hydrophila

El género *Aeromonas*, pertenece a la familia *Vibrionaceae*. Son en su gran mayoría bacilos Gram negativo fermentadores, levemente curvados, oxidasa positivo, móviles por la presencia de flagelos polares, catalasa positivo y reducen nitratos a nitritos.

Sobre la base de estudios en la genética molecular de este género, se cree posible la creación de una nueva familia: *Aeromanadaceae* .

Este género está ampliamente distribuido en la naturaleza y lo encontramos especialmente en ambientes acuáticos. Han sido aislados de agua fresca, de agua clorada, de agua contaminada y de agua salada.

Especies de *Aeromonas* se asocian con una gran gama de infecciones en animales de sangre fría como ranas, peces, reptiles, serpientes y aves. Las especies más frecuentemente aisladas son: *Aeromona hydrophila*, *Aeromona caviae* y *Aeromona veronii*.

Desde el punto de vista clínico, *Aeromonas hydrophila* se ha relacionado con infecciones tanto intra como extra intestinales. Puede ser causa de diarrea secretoria que se dice semejante al cólera, aunque aún hay dudas al respecto. Sin embargo, se le asocia con infecciones principalmente en niños menores de 5 años. (15)

4. DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio:

Documental, sincrónico, retrospectivo y descriptivo.

Área de estudio:

Hospital Nacional de niños Benjamín Bloom, del departamento de San Salvador.

Universo:

Todos los niños (as) que ingresaron al servicio de nefrología del Hospital Nacional de niños Benjamín Bloom de Marzo de 2009 a Marzo de 2010 que se les realizó los análisis en el líquido peritoneal durante el proceso de la diálisis peritoneal.

Muestra:

Todos los pacientes que ingresaron al servicio de nefrología, y se les practicó los respectivos análisis, dando resultados positivos y negativos en el examen microbiológico. El total de muestras fue de 366.

Técnica de recolección:

- Recolección de información:

Esta tomada de los expedientes de pacientes atendidos en el laboratorio clínico, en el área de bacteriología.

- Técnicas de Laboratorio

Toma de muestra: (anexo 9)

Análisis de Líquido Peritoneal (anexo 10)

Medios de cultivo (anexo No 11)

Marcha bacteriológica (anexo No12)

Pruebas de identificación (anexo No13)

Antibiograma (anexo 14)

- Instrumentos

Hoja de registro de información (anexo15)

- Plan de tabulación y análisis de datos Con la información obtenida se harán cuadros y gráficos según variables investigadas. El análisis se hará según el logro de los objetivos propuestos.

5. RESULTADOS

TABLA Y GRÁFICO No.1
FRECUENCIA DE CULTIVOS DE LIQUIDOS PERITONEALES
REALIZADOS EN PACIENTESE QUE SON ATENDIDOS EN EL SERVICIO
DE NEFROLOGIA DEL HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS BENJAMIN
BLOOM DE MARZO 2009 A MARZO DE 2010.

CULTIVOS NEGATIVOS		CULTIVOS POSITIVOS		TOTAL	
Fx	%	Fx	%	Fx	%
324	89.0	42	11.0	366	100

FUENTE: Hospital de Niños Benjamín Bloom.

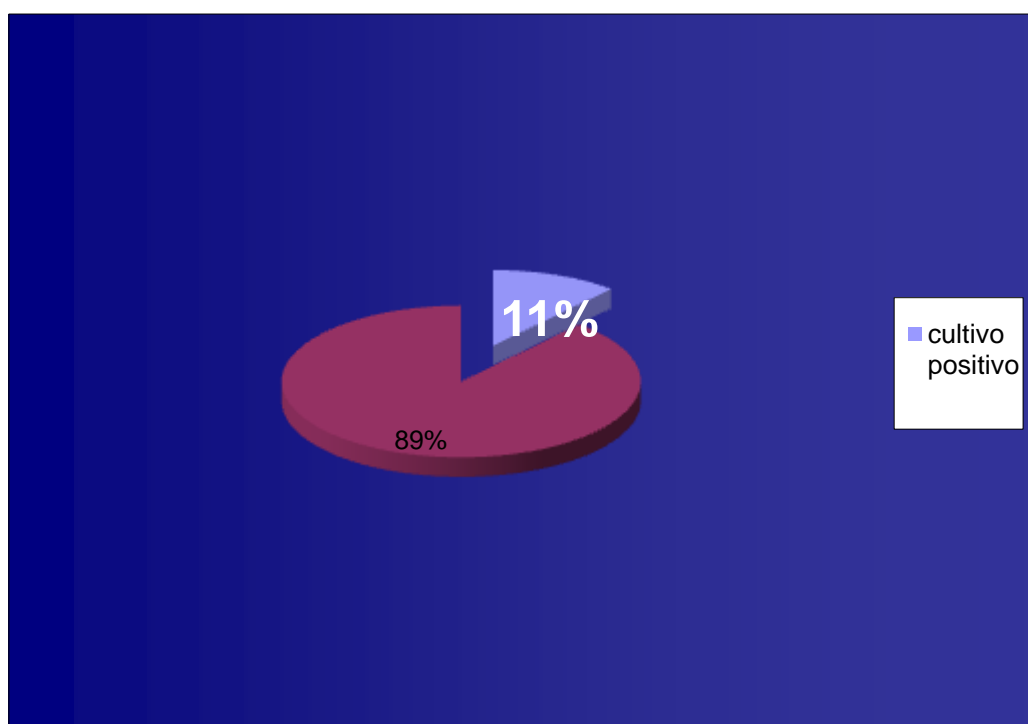


TABLA Y GRÁFICO No 2.

FRECUENCIA DE CULTIVOS DE LIQUIDOS PERITONEALES SEGÚN SEXO DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE NEFROLOGIA DE MARZO DE 2009 A MARZO DE 2010.

SEXO	CULTIVOS POSITIVOS		CULTIVOS NEGATIVOS		TOTAL	
	Fx	%	Fx	%	Fx	%
MASCULINO	21	10.2	184	89.8	205	100
FEMENINO	21	13.0	140	87.0	161	100

FUENTE: Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

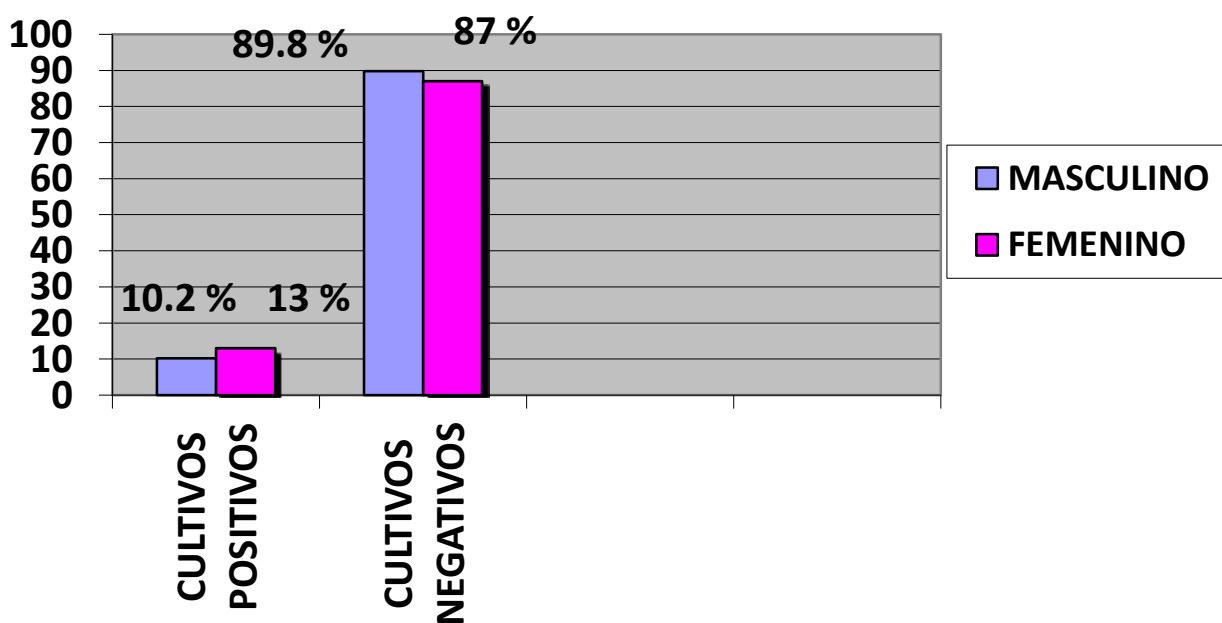


TABLA No. 3

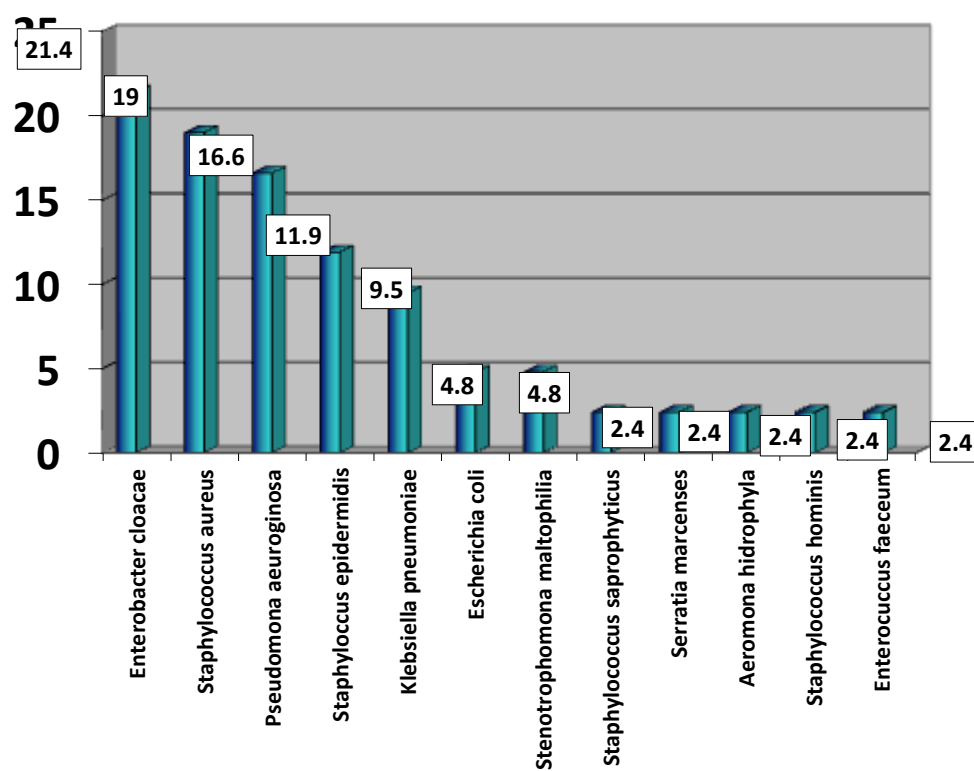
FRECUENCIA DE BACTERIAS AISLADAS EN CULTIVOS POSITIVOS DE LIQUIDOS PERITONEALES DE PACIENTES QUE SON ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE NEFROLOGIA EN EL HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS BENJAMÍN BLOOM DE MARZO DE 2009 A MARZO DEL 2010.

BACTERIAS	Fx	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	21.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	19.0
<i>Pseudomona aeuroginosa</i>	7	16.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	11.9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	9.5
<i>Escherichia coli</i>	2	4.8
<i>Stenotrophomona maltophilia</i>	2	4.8
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	2.4
<i>Serratia marcescens</i>	1	2.4
<i>Aeromona hydrophyla</i>	1	2.4
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	2.4
<i>Enterococo faecium</i>	1	2.4
TOTAL	42	100

FUENTE: Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

GRÁFICO No 3

FRECUENCIA DE BACTERIAS AISLADAS EN CULTIVOS POSITIVOS DE LIQUIDOS PERITONEALES DE PACIENTES QUE SON ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE NEFROLOGIA DE MARZO DE 2009 A MARZO DEL 2010.



6. ANÁLISIS

Esta investigación fue realizada a partir de los datos obtenidos de los pacientes que fueron atendidos en el servicio de nefrología en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, a los cuales se les tomo una muestra de líquido peritoneal y se les hizo un cultivo bacteriológico durante el periodo de Marzo de 2009 a Marzo de 2010, con el objetivo de investigar que bacterias se encuentran con mayor frecuencia en líquido peritoneal diferenciándolas según el sexo, durante el periodo de tiempo antes mencionado.

Una vez contando con la información requerida, se procedió a realizar diversas tablas en la cual se organizó todos los datos obtenidos. Es así, como se estableció, que la población que abarca la presente investigación fue de 366 cultivos realizados a pacientes que fueron atendidos en el servicio de nefrología, de los cuales el total de cultivos positivos fue de 42 con un porcentaje de 11.5%, y el total de cultivos negativos fue de 324 con un porcentaje de 88.5%. (Tabla No 1)

La tabla No 2, nos presenta un total de 205 muestras que fueron tomadas del sexo masculino contra 161 que fueron del sexo femenino, del cual los cultivos positivos en el sexo masculino fue de 21 con un porcentaje de 10.2% en cuanto al sexo femenino fue de 21 cultivo positivos con un porcentaje de 13.0% .

La Tabla No 3, se observa a los aislamientos específicos de bacterias, *Enterobacter cloacae* es el más aislado en este tipo de cultivo con una frecuencia de 9 con un porcentaje de 21.4%, siendo una bacteria oportunista cuya presencia puede ser perjudicial en pacientes bajo tratamiento con diálisis peritoneal debido a que produce infecciones oportunistas en pacientes hospitalizados o inmunodeprimidos, en pacientes inmunocompetente, su actividad patógena es escasa ante los mecanismo de defensa del huésped, seguido por *Staphylococcus aureus* con una frecuencia de 8 y un porcentaje de 19.0% este es un microorganismo que pertenece a la microbiota del ser humano, se

encuentra en fosas nasales y piel continuando con *Pseudomona aeuroginosa* con una frecuencia de 7 y un porcentaje de 16.6% siendo nosocomial y oportunista, es casi omnipresente en el ambiente hospitalario y se encuentra en todas partes donde exista humedad. *Staphylococcus epidermidis* con frecuencia de 5 y un porcentaje de 11.9%. Es una bacteria de la microbiota de la piel humana, del aparato respiratorio y gastrointestinal. *Klebsiella pneumoniae* con una frecuencia de 4 y un porcentaje de 9.5% desempeñan un importante papel como causa de las enfermedades infecciosas oportunistas.

7. CONCLUSIONES

Según resultados y análisis de los mismos se concluye que:

- De acuerdo con el porcentaje obtenido de las bacterias reportadas en el servicio de nefrología del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom del periodo de Marzo de 2009 a Marzo de 2010, se determinó que la bacteria que con más frecuencia se aísla de muestras de líquidos peritoneales, es el *Enterobacter cloacae*. Que forma parte de la flora entérica comensal, está ampliamente distribuidas en agua y suelos.
- La segunda bacteria aislada fue *Staphylococcus aureus* es un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprófito, se encuentra en la piel del individuo sano pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad.
- La inadecuada asepsia durante el proceso de la diálisis, conlleva a la contaminación del líquido peritoneal dado por el arrastre de las bacterias que forman parte de la flora bacteriana normal y que al mismo tiempo en el centro hospitalario se clasifica como causante de infección nosocomial.
- El sexo masculino es el que asiste con mayor frecuencia al servicio de nefrología en el Hospital Nacional de niños Benjamín Bloom y en menor frecuencia el sexo femenino obteniendo igual número de cultivos positivos en ambos sexos.

8. RECOMENDACIONES

Al comité nosocomial:

- Mantener programas de vigilancia constante para permitir establecer las diferentes relaciones que se pueden establecer entre el apareamiento de infecciones de líquidos peritoneales, su control y tratamiento.
- Manejar de manera adecuada la información de acuerdo a la estación en que mayor se presentan este tipo de problemas, para poder así escoger mejores formas de prevención y tratamiento

Al personal médico y de salud:

- Evaluar constantemente los procedimientos que se realizan para poder establecer los cuidados que se deben de tomar en cuenta para prevenir las infecciones que den como positivas las muestras de líquidos peritoneales.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ARGUETA; J. ALBERTO. 2009. Metodología de la investigación. Guía para abordar los problemas de salud. Material mimeografiado.
2. BEHRMAN, RICHARD; ROBERT KLIEGMAN. Tratado de Pediatría. 17^a Edición. Madrid España. Editorial Elsevier. Pág. 1767 – 1773.
3. Diccionario Mosby de Medicina y Ciencias de la Salud. 1995. Traducción: DIORKI. Edición en español, Madrid, España. Editorial Servicios Integrales de Edición, S. L. Pág. 335.
4. GARDNER, GRAY, O'RAHILLY. 1986. Anatomía de Gardner. Traductores Dr. Carlos Hernández Zamora. 5^a Edición. México D.F. Editorial Nueva Editorial Interamericana. Pág. 423, 424.
5. Henry, J Bernard, Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. 8^a. Edición. 1991 Editorial Ediciones Científicas y Técnicas pág. 600 – 606
6. Henry, J Bernard, Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. 9^a. Edición. 1994 Editorial Ediciones Científicas y Técnicas. Pág. 481 – 483.
7. JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG, 2002, Microbiología Médica. Traductor: Dra. Ilean Naget Arsof Saab. 17^a Edición. México D.F. Editorial Manual Moderno

8. KONEMAN, ELMER W. 1992. Diagnóstico Microbiológico. Traductores Dra. Nora G. Meeroff y Dra. Beatriz E. Roel. 3ª Edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana. Pág.
9. PELCZAR Jr. MICHAEL., Microbiología, 4ª. Edición, Editorial Mc-Graw-Hill España 1997.
10. WALKER, T.S., 2000. Microbiología. Traductor: María Teresa Aguilar. Ortega. México D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Pág. 162.
11. WILLIAM F. GANONG.200. Fisiología Médica. Traductor MSP Javier Eduardo Gómez Saborío. 17ª Edición. México, D.F. Editorial El Manual Moderno.pág.777 – 778.
12. SOTO BASURTO, Elvis Anthony. Soto Anatomía: Segmento-Abdomen. [Monografía en Internet]. Lima, Perú: Soto Basurto, Elvis Anthony; 2007 [Acceso Marzo de 2010]. Disponible en:
<http://sotoanatomiaabdomen.wordpress.com/category/peritoneo/>
13. Rivas R. y Sánchez Martín M.I. Capítulo 143: Diálisis Peritoneal, Tratado de Enfermería en Cuidados Críticos Pediátricos y Neonatales, [Monografía en Internet]. Madrid, España: Rivas R. y Sánchez Martín M.I. ; 2006 [acceso marzo de 2010].Disponible en:
<http://www.eccpn.aibarra.org/temario/seccion9/capitulo143/capitulo143.htm>.

14. Cercenado Mansilla Emilia . *Stenotrophomonas maltophilia*: Un Patógeno Nosocomial Emergente, Control Calidad SEIMC. [Monografía en Internet].Madrid, España: Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón; 2003 [acceso julio 2010]. Disponible en:http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/Smalto.htm

15. HERRERA, Marco L., VARGAS, Alvaro, MOYA, Tatiana *et al.* Aislamientos de Aeromonas hydrophila en el Hospital Nacional de Niños, 1995 - 1998. *Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)*. [online]. ene. 2000, vol.35, no.1-2 [citado 22 Julio 2010], p.73-77. Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85462000000100011&script=sci_arttext

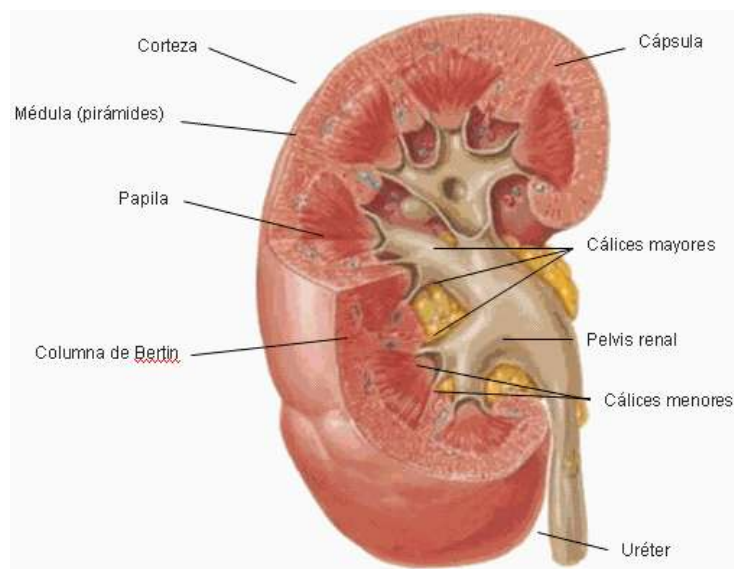
ANEXOS

ANEXO 1 Peritoneo



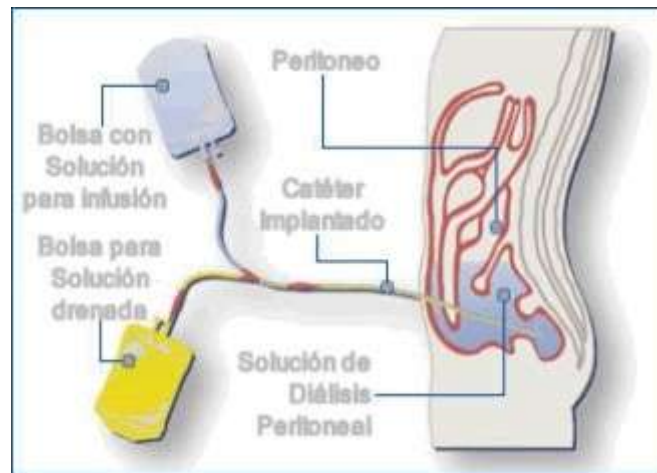
ANEXO 2

Estructura del riñon



ANEXO 3

Modelo de diálisis peritoneal



ANEXO 4

Cicladora de diálisis peritoneal



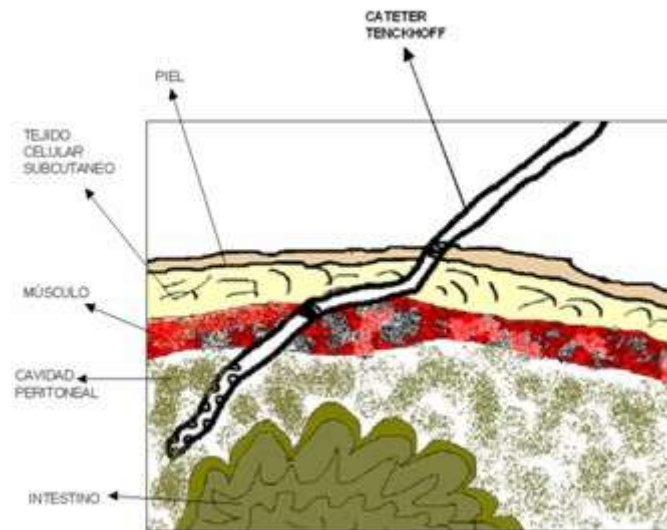
Anexo 5

Situación del catéter en abdomen



Anexo 6

Punto de entrada del catéter



Anexo 7

Situación del catéter



Anexo 8

Tipos de catéteres

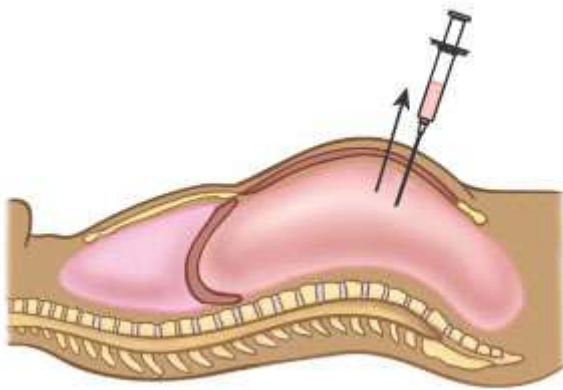


Anexo 9

TOMA DE MUESTRA

Mediante:

- Paracentesis: Procedimiento invasivo que consiste en realizar una punción en la cavidad abdominal, con técnica estéril, para obtener líquido peritoneal, con fines diagnósticos o terapéuticos.



- Diálisis

ANEXO 10

ANALISIS DEL LÍQUIDO PERITONEAL

PROCEDIMIENTO

Se recibirán 2 tubos con 0.5-1.0 cc de muestra para estudio microbiológico y el otro para el citoquímico.

EXAMEN FISICO

Observar la muestra para anotar los siguientes aspectos:

Color:

- Incoloro
- Sanguinolento
- Amarillo
- Agua de coco
- Café

Aspecto:

- Limpio
- Turbio
- Leve turbio

Coagulación:

- Negativo
- Positivo a fibrina
- Positivo a glóbulos rojos
- Positivo a glóbulos blancos.

Sedimentos: (se observa después de centrifugado)

- Negativo
- Positivo a glóbulos rojos

- Positivo a glóbulos blancos
- Positivo a leve de glóbulos rojos
- Positivo a leve de glóbulos de blancos
- Positivo de glóbulos rojos y blancos
- Positivo de bacterias

EXAMEN CITOLOGICO

Recuento de glóbulos rojos y blancos: mezclar bien el tubo y con una pipeta pasteur o micropipeta montar en la cámara de Neubauer y observar al microscopio al 10x y 40x, observar la ausencia o presencia de elementos.

Recuento Directo:

- Si se cuentan las 9 áreas primarias el número de glóbulos rojos se va a multiplicar por 10 entre 9 será igual Glóbulos $\times \text{mm}^3$
- Si se cuentan las 4 áreas primarias será el número de glóbulos rojos por 10 mm^3
- Si se cuentan 2 áreas primarias opuestas número de glóbulos rojos por 50 será igual a glóbulos por mm^3
- Si se cuentan 5 áreas secundarias del área central el número de glóbulos por 500

Recuento con Dilución

Si el líquido llega sanguinolento, purulento o no se puede realizar un recuento directo, hacer una dilución 1:5 ó 1:10 según amerite con solución salina 0.85% de la siguiente forma:

- Dilución 1:5 = 100 ul líquido + 400 ul de solución salina.
- Dilución 1:10= 100 ul líquido + 900 ul de solución salina.

Mezclar bien la dilución y montar en la cámara de Neubauer para hacer el recuento.

Calculo:

Dilución 1:5

- Si se cuenta un área primaria será el número de glóbulos por 50
- Si se cuentan dos áreas primarias opuestas por 25

Dilución 1:10

- Si se cuenta un área primaria será: el número de glóbulos por 100
- Si se cuentan dos áreas primarias opuestas: número de glóbulos por 50
- Si se cuentan cinco áreas secundarias del área central: número de glóbulos por 500

EXAMEN QUÍMICO

Poner a centrifugar el líquido a 3500 rpm por 5 minutos al sacar el tubo de la centrífuga observará la presencia o ausencia de sedimento.

- Decantar el sobrenadante en un tubo o copa para analizar la glucosa y proteínas por el método que esta realizando en ese momento en el laboratorio
- Cuando el líquido tenga más de 10 leucocitos por mm^3 hacer un recuento diferencial así:
 1. Del sedimento hacer dos láminas, colocando dos gotas en cada una dejándola secar a temperatura ambiente.
 2. No extender mucho la gota ya que cuando los elementos están escasos se dificulta hacer el recuento diferencial
 3. Colocar una lámina con la coloración de wright: colocar 3 gotas del colorante de wright sobre el extendido del líquido e inmediatamente agregar 3 ó 4 gotas de buffer mezclar con perilla y dejar en reposo por 5 minutos, luego lavar con agua y secar a temperatura ambiente, observar a 100x para hacer el recuento diferencial y reportar el porcentaje de células.

ANEXO 11

MEDIOS DE CULTIVO

AGAR MAC CONKEY

Peptona (17g)	: alcaliniza el medio
Proteosa peptona (3 gr)	: nutriente
Lactosa (10 gr)	: carbohidrato
Cloruro de sodio (5 gr)	: evita lisis bacteriana
Sales biliares (15 gr)	: inhibe las bacterias coliformes
Agar: (13.5 gr)	: solidificante
Rojo Neutro (0.03 gr)	: indicador de pH
Cristal violeta (0.001 gr)	: inhibidor de las bacterias gram positivo
Agua destilada: (1 lt.)	: diluyente

Este es un medio Selectivo y Diferencial: Selectivo porque solo crece bacilos gram negativos y diferencial porque separa a los fermentadores de los no fermentadores de lactosa; en el cual las bacterias lactosa positivas forman colonias rosadas y las lactosas negativas incoloras.



AGAR SANGRE

Medio base para agar sangre

Proteosa peptona (15gr) : nutriente

Extracto de hígado (2.5 gr.) : nutriente

Extracto de levadura (5gr) : nutriente

Cloruro de sodio (5 gr) : balance osmótico

Agar (12gr) : solidificante

Agua destilada (1 lt) : diluyente

Sangre estéril (50 ml) : nutriente y detecta hemólisis

Medio Enriquecido: Es útil tanto para aislamiento de microorganismos y el estudio de su capacidad hemolítica.

También este medio de cultivo puede utilizarse como medio base para preparar Agar Chocolate.



AGAR CHOCOLATE

Lleva como base agar nutritivo, al que se agrega sangre desfibrinada cuando el medio está a una temperatura de aproximadamente 80° C. El calentamiento tiene como fin la liberación de los factores X (hemina) y V (difosfo-piridín-adenínnucleótido),necesarios para el desarrollo de algunos microorganismos. Está especialmente indicado para *Neisseria* y *Haemophilus*.



Agar Manitol

Extracto de carne	(1gr)	: nutriente
Proteosa peptona No 3	(10gr)	: nutriente
Cloruro de sodio	(75 g)	: inhibidor
Manitol	(10 g)	: sustrato
Agar	(15g)	: solidificante
Rojo fenol	(0.25 g)	: indicador
Agua destilada	(1 Lit.)	: diluyente

Medio Selectivo: Usado para aislamiento selectivo de especies patógenas de *Staphylococcus*, ya que otras especies son inhibidas por la alta concentración de sal. Las colonias típicas están rodeadas de un halo amarillo, que indica la fermentación del manitol.



Caldo de Tioglicolato (CTIO)

Peptona	20 g
L- cistina	0.25 g
Glucosa	6 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Tioglicolato de sodio	0.7 g
Sulfito de sodio	0.1 g
Agar	0.7 g
Agua destilada	1 L

Favorece el crecimiento o desarrollo de una gran variedad de microorganismos aerobios y anaerobios. El medio de cultivo tiene en sus componentes la calidad nutricional de caldo tripticasa de soya. Permite el desarrollo de una amplia variedad de microorganismos incluidos los nutricionalmente exigentes. Se observa que las bacterias estrictamente aerobias crecen en la parte superior, mientras que los anaerobios facultativos o anaerobios estrictos crecen en profundidades del medio. Las sustancias reductoras como el tioglicolato y cistina proporcionan una anaerobiosis suficiente debido a los grupos $-SH-$ de estos compuestos que neutralizan los efectos bacteriostáticos de los derivados mercuriales, arsenicales y otros metales pesados.



Tubo # 1: Aerobio estricto

Tubo # 2: Anaerobio facultativo

Tubo # 3: Anaerobio aerotolerante (Microaerofílico)

Tubo # 4: Anaerobio estricto

AGAR MUELLER HINTON

Infusión de carne de res	300 g
Peptona acidificada	17.5 g
Almidón	1.5 g
Agar	17 g
Agua destilada	1 L

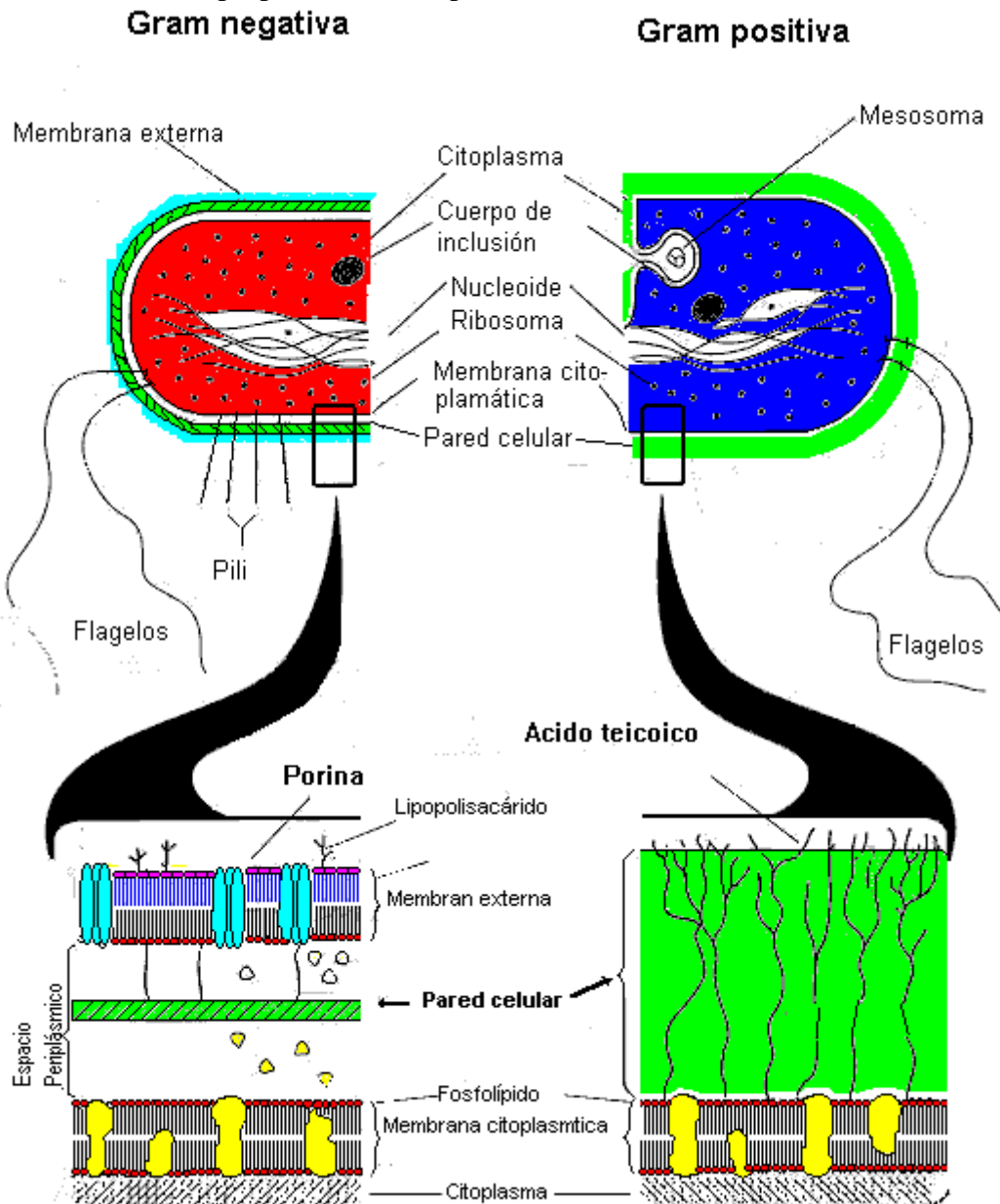
El medio es usado principalmente para el método de difusión del disco en agar para probar la susceptibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos.



ANEXO 12

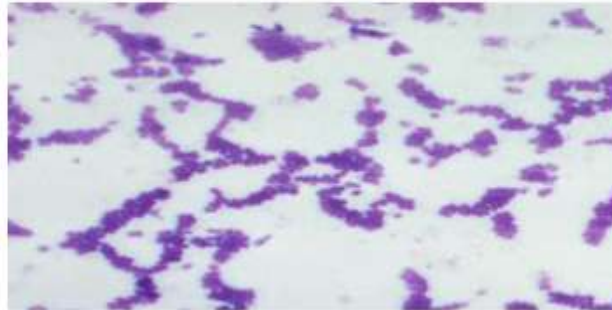
COLORACION DE GRAM

- Debe su nombre al [Bacteriologo Danés Christian Gram](#) que la desarrollo en 1844. Es una tinción diferencial, clasificando a las bacterias en Gram + y Gram -, de acuerdo a las propiedades de su pared celular:

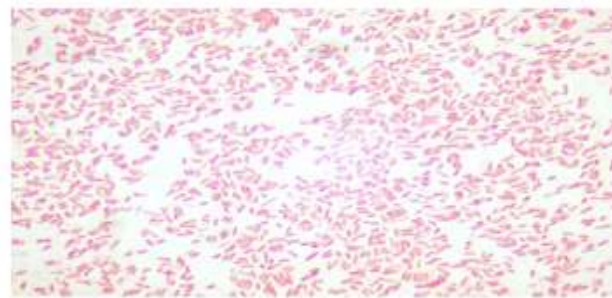


- Los pasos a seguir para realizar la tinción son los siguientes:
- 1º Fijamos la muestra mediante calor.
- 2º Violeta cristal (Tiñe todas las bacterias, gram + y -) 1´.
- 3º Fijamos con Lugol, 1´.
- 4º Decoloremos con una mezcla alcohol-cetona (los gram - se decoloren).
- 5º Safranina (colorante de contraste, tiñe a los gram -), 1´.

- Los tiempos para aplicar cada colorante es orientativo. En la tinción se observarán de color azul-violeta las gram positivos y de color rosa las gram negativos.



Bacterias Gram positivas



Bacterias Gram negativas

Los fundamentos de la técnica se basan en las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas

La pared celular de las bacterias Gram positivas posee una gruesa capa de peptidoglucano, además de dos clases de ácidos teicoicos: Anclado en la cara interna de la pared celular y unido a la membrana plasmática, se encuentra el ácido lipoteicoico, y más en la superficie, el ácido teicoico que está anclado solamente en el peptidoglucano (también conocido como mureína)

Por el contrario, la capa de peptidoglucano de las Gram negativas es delgada, y se encuentra unida a una segunda membrana plasmática exterior (de composición distinta a la interna) por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglucano unida a una membrana exterior por lipoproteínas. La membrana exterior está hecha de proteína, fosfolípido y lipopolisacárido.

La diferencia que se observa en la resistencia a la decoloración, se debe a que la membrana externa de las Gram negativas es soluble en solventes orgánicos, como por ejemplo la mezcla de alcohol/acetona. La capa de peptidoglucano que posee es demasiado delgada como para poder retener el complejo de cristal violeta/yodo que se formó previamente, y por lo tanto este complejo se escapa, perdiéndose la coloración azul-violácea. Pero por el contrario, las Gram positivas, al poseer una pared celular más resistente y con mayor proporción de peptidoglicanos, no son susceptibles a la acción del solvente orgánico, sino que este actúa deshidratando los poros cerrándolos, lo que impide que pueda escaparse el complejo cristal violeta/yodo, y manteniendo la coloración azul-violácea.

Siembra Inicial

Debe sembrarse en los medios de Agar Chocolate, Agar Sangre de Carnero, Agar MacConkey y Caldo tioglicolato además se les hace una coloración de Gram.

El tipo de siembra que se realiza es por agotamiento, inoculando primero el Agar Chocolate, la incubación para el Agar Sangre de Carnero Y Agar chocolate es un anaerobio se incuba a 35° C por 48 horas, MacConkey y el caldo en aerobiosis.



Lectura inicial

Se realiza de 18 a 24 horas de incubación.

Si no hay crecimiento incubar 24 horas más.

Si hay colonias aisladas se procede a la identificación del microorganismo y sensibilidad en forma automatizada.

Si hay más de un tipo de colonias se procede a aislarlas para luego identificar y hacer sensibilidad.

ANEXO 13

PRUEBAS DE IDENTIFICACION

PROCESOS RESPIRATORIOS QUE UTILIZAN LAS BACTERIAS PARA LA OBTENCIÓN DE ENERGÍA

A) PRUEBA DE LA CATALASA

* **Fundamento:** se investiga la presencia en el microorganismo de la enzima catalasa, capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno o agua oxigenada (H_2O_2) en H_2O y O_2 , que se desprende en forma de burbujas en el medio. El H_2O_2 se forma como un producto Vitro oxidativa de la descomposición aeróbica de los azúcares; si se acumulara sería tóxica para la bacteria.

* **Reactivo:** H_2O_2 de 10 volúmenes (3%).

* **Técnica:**

Con un asa o hilo de inoculación, recoger el centro de una colonia pura de 18-24 horas y colocarla sobre un portaobjetos limpio. A continuación agregar una gota de agua oxigenada de 10 volúmenes sobre el microorganismo del portaobjetos.

No invertir el orden del método pues pueden registrarse falsos positivos especialmente si se utilizan hilos o asas que contengan hierro. Si se están utilizando asas o hilos de platino también se puede caer en este error ya que el platino puede producir un resultado falsamente positivo. El nicrom no ocasiona estos problemas. No es necesaria la mezcla del cultivo y el agua oxigenada con la aguja o el asa de inoculación.

Si el microorganismo es catalasa [+] se observará de inmediato la aparición de burbujas (liberación de gas).

También se puede realizar esta prueba agregando directamente el agua oxigenada a un cultivo puro de agar en pico de flauta o en placa (sobre colonias aisladas en este caso).

Precauciones:

Se debe evitar la utilización de agar-sangre como medio de cultivo ya que los eritrocitos contienen la enzima catalasa y podemos obtener falsos positivos.

El H₂O₂ al 30% (100 volúmenes) es una solución bastante cáustica.

No se deben usar cultivos excesivamente viejos, ya que con el tiempo pueden perder la actividad catalásica, pudiéndose obtener falsos resultados negativos.

No utilizar asas o hilos de **platino**, ni que contengan vestigios de hierro.

* **Interés:** diferenciación de los géneros:

- Streptococcus [-], Micrococcus [+] y Staphylococcus [+]
- Clostridium [-] y Bacillus [+].

B) PRUEBA DE LA OXIDASA

* **Fundamento:** se investiga la presencia de la enzima citocromooxidasa en el microorganismo, la cual oxida al dimetil-parafenilen-diamina (reactivo incoloro) dando un producto de color.

El sistema citocromooxidasa se encuentra, por lo general, en microorganismos aerobios.

* **Reactivos:** Dimetil-p-fenilendiamina o tetrametil-p-fenilendiamina impregnado sobre tiras o discos de papel de filtro.

* **Técnica. Lectura e interpretación de resultados:**

1. Colocar una tira o disco impregnado de reactivo en un porta.
2. Tomar una colonia con el asa y depositarla sobre la tira o disco.
3. La aparición de un color azul oscuro indica la existencia del enzima citocromooxidasa (prueba positiva).

Precauciones:

Proteger el reactivo de la luz ya que se altera con ella.

Guardar en frío.

Los medios que contienen colorantes pueden interferir la reacción.

Algunas asas de cultivo metálicas pueden interferir la reacción. Se

ha comprobado que la presencia de un simple vestigio de hierro puede por sí solo catalizar la oxidación del reactivo, dando una falsa reacción positiva. Por ello deben utilizarse *asas desechables* o *bastoncillos*.

* **Interés:** ayuda a la identificación de los géneros *Pseudomonas* (por lo general positivo) de las Enterobacterias [-], entre otros.

ENSAYOS BIOQUIMICOS

La identificación de un aislamiento bacteriano puede realizarse utilizando diferentes combinaciones de características y diferentes criterios en la evaluación de similitudes.

Los ensayos bioquímicos tradicionalmente utilizados, llamadas pruebas bioquímicas convencionales, generalmente determinan la actividad de una vía metabólica (conjunto de reacciones químicas) a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no.

Estudio de bacterias en medios diferenciales:

Prueba de Indol:

Fundamento:

Es una prueba bioquímica realizada en especies bacterianas para determinar la habilidad del organismo de romper el indol del aminoácido triptófano. Esta división molecular es lograda por una serie de enzimas intracelulares diferentes, un sistema que en conjunto se le llama con frecuencia *triptofanasa*.

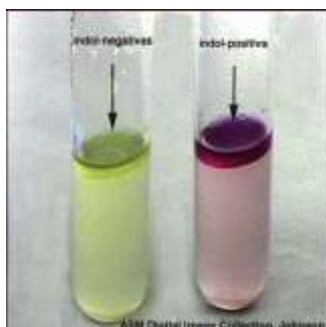
Se genera el indol por una desaminación reductiva del triptófano vía la molécula intermediaria ácido indolpirúvico. Las triptofanasas catalizan la reacción de desaminación, durante el cual se remueve el grupo amino (NH₂) de la molécula de triptófano. Los productos finales de la reacción son el indol, ácido pirúvico, amoníaco (NH₃) y energía. Como coenzima de la reacción se requiere al fosfato de piridoxal.

Procedimiento

Tal como ocurre con muchas pruebas bioquímicas, los resultados de una prueba de indol se indican con el cambio de color que sigue a la reacción. El cultivo bacteriano puro debe ser sembrado en un caldo con triptófano o peptona estériles o ambos por 24 a 48 horas antes de realizar la prueba. Luego de la incubación, se añaden cinco gotas de reactivo Kovac (alcohol isoamilo, *p*-dimetilaminobenzaldehído y ácido clorhídrico concentrado al caldo del cultivo.

Una variante de la prueba se realiza usando el reactivo de Ehrlich's (usando alcohol etílico en lugar del alcohol isoamilo, desarrollado por Paul Ehrlich), en especial si se tiene un organismo que no sea fermentador y en organismo anaeróbico.

Los resultados positivos se muestran por la presencia de un color rojo o rojo-violeta en la superficie de la capa de alcohol en el cultivo. Un resultado negativo se muestra amarillo. Un resultado variable puede ocurrir cuando se muestra un color anaranjado. Ello es debido a la presencia de escatol, también conocido como metil-indol o indol metilado, otro posible producto de la degradación del triptófano.



Prueba del rojo de Metilo:

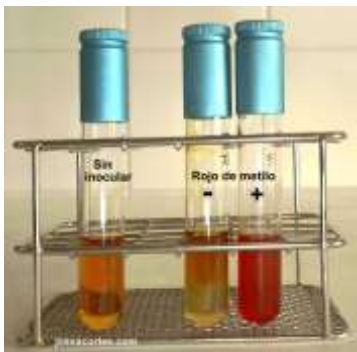
Fundamento

El rojo de metilo es un indicador de Ph. (Fórmula: $C_{15}H_{15}N_3O_2$). Actúa entre Ph 4,2 y 6,3 variando desde rojo (Ph 4,2) a amarillo (Ph 6,3). Por lo tanto, permite determinar la

formación de ácidos que se producen durante la fermentación de un carbohidrato. El rojo de metilo se prepara con 0,1 g de este reactivo en alcohol metílico y se diluye en 1500 ml de metanol. Una reacción positiva (más o menos) indica que el microorganismo realiza una fermentación acidoláctica de la glucosa por la vía ácido-mixta.

Procedimiento

A uno de los tubos se le añade unas gotas (4-5) de solución indicadora de Rojo de Metilo. Se agita para homogeneizar y se observa la coloración. Se considera positiva si vira al rojo y negativa si permanece amarillo.



Prueba de Voges-Proskauer:

Fundamento:

Permite determinar la formación de acetil metil carbinol, el que es un producto intermediario de la fermentación que conduce a la formación de 2,3 butanodiol y que caracteriza a ciertas especies de las Enterobacteriaceae, por lo que indicará que la glucosa es fermentada por la vía butanodiólica.

Procedimiento:

- Se le añade: 0,6ml del Reactivo A de Voges-Proskauer (alfa-naftol 5% en etílico absoluto). El medio adquiere un aspecto lechoso. 0,2 ml del Reactivo B de Voges-Proskauer (KOH 40%). Desaparece el aspecto lechoso y se agita fuertemente.

Si la prueba es positiva, antes de cinco minutos aparece un color rosado-violáceo, más o menos intenso, que se inicia en la parte superior del tubo. Si la prueba es negativa no aparece coloración alguna.

Prueba del Citrato

Fundamento:

Sirve para determinar si un microorganismo puede crecer utilizando citrato como única fuente de carbono. Se hace crecer la bacteria en caldo citrato. Un resultado positivo es cuando se observa turbidez en el tubo, debido al crecimiento bacteriano. Un resultado negativo es cuando no se observa crecimiento.

Procedimiento:

Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons. Este medio contiene citrato de sodio y fosfato de amonio como fuentes de carbono y de nitrógeno respectivamente y azul de bromotimol como indicador de pH. Sólo las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y liberarán iones amonio lo que, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una fuerte basificación del medio que será aparente por un cambio de color del indicador de Ph, de verde a azul



Prueba TSI (Triple Sugar Iron ó Triple Azúcar Hierro)

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. También permite la identificación de la producción de SH₂. Medio diferencial complejo (de color rojo) compuesto por 3 azúcares: **10% lactosa, 10% sucrosa y 1% dextrosa** y un ligador que es en este caso el hierro. La siembra se realiza tanto en la superficie del agar (aerobiosis) como en la profundidad de éste (anaerobiosis).

Medio K (alcalino) de color rojo. Medio A (ácido) de color amarillo.

K/A (alcalino/ácido)

Si la bacteria metaboliza la glucosa: en la superficie la utiliza por vía respiratoria, y donde la tensión de oxígeno disminuya lo suficiente, emplear una pequeña proporción por vía fermentativa. Esto genera una pequeña cantidad de ácidos que serán neutralizados por las aminas derivadas de la decarboxilación 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 (ácido/ácido)

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.

K/K (alcalino/alcalino)

Si la bacteria es aerobia estricta (no fermentadora), el medio permanece de color rojo. Los azúcares son respirados, degradándose completamente hasta CO₂, que se elimina y no modifica el Ph.

A/A(g) (ácido/ácido con presencia de gas)

aparición de burbujas, rotura o elevación del agar del fondo del tubo.

K/A(H₂S) (alcalino/ácido con presencia de ácido sulfhídrico)

aparición de un precipitado de color negro en el fondo del tubo. Algunas bacterias son capaces de emplear el tiosulfato sodio como aceptor final de electrones en la cadena

transportadora. Este compuesto se reduce a ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro Fe^{2+} presente en el medio formando un precipitado negro de sulfuro de hierro.



1 Y 2 = Fermentador glucosa, productor ácido Sulfhídrico y de gas.

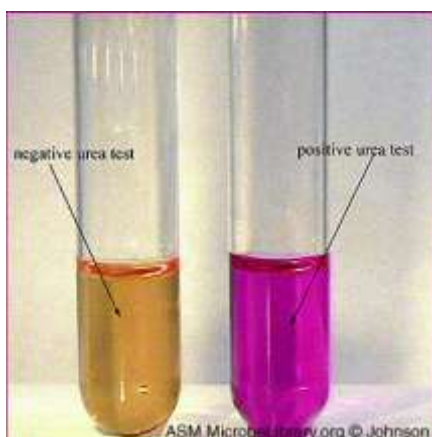
3 = Fermentador glucosa, lactosa y productor de gas.

Prueba de Urea:

Fundamento:

El indicador de Ph utilizado es el **rojo fenol**.

Esta prueba detecta la presencia de la enzima **ureasa** en el metabolismo bacteriano, la cual al **hidrolizar urea** forma productos amoniacos que alcalinizan el medio y se evidencia con el cambio de color del medio desde un amarillo pálido hasta un **rojo fucsia**.



Prueba de movilidad

Fundamento:

Prueba de la Movilidad

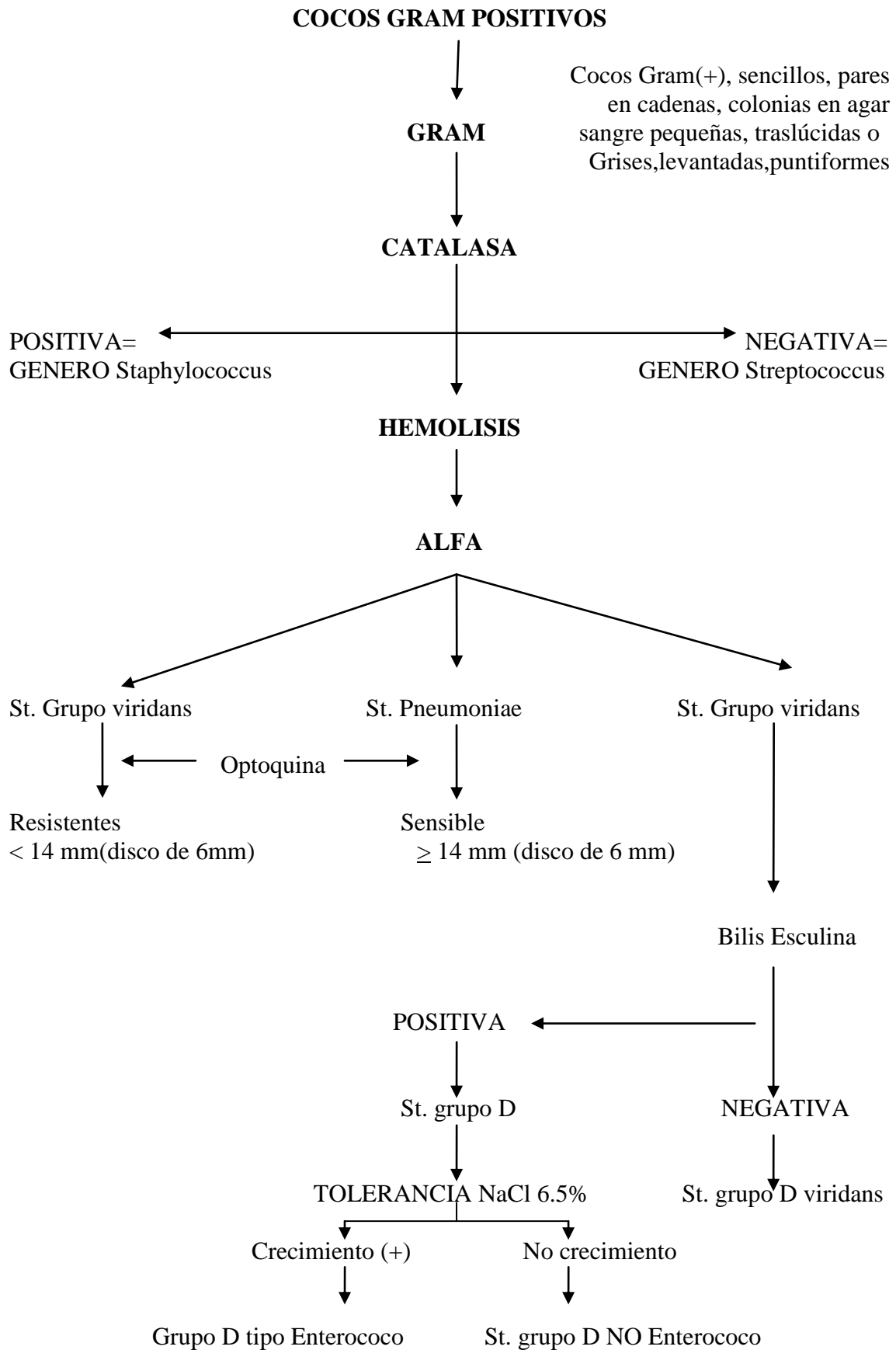
Sirve para determinar si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos que se encuentran principalmente entre los bacilos aunque existen algunas formas de cocos móviles.

El medio manitol movilidad permite la realización de esta prueba gracias a ser semisólido ya que presenta solamente 3,5 g/l de agar. En estas condiciones, las bacterias móviles producirán un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria de los microorganismos. Por el contrario, las bacterias inmóviles permanecerán en la misma línea de la picadura en que se sembraron.

Entre las enterobacterias, la movilidad nos permite diferenciar el género *Klebsiella* (-) de las restantes que suelen ser movilidad (+). Dentro del género *Bacillus*, nos permite diferenciar *Bacillus anthracis* (-) de otras especies generalmente (+).

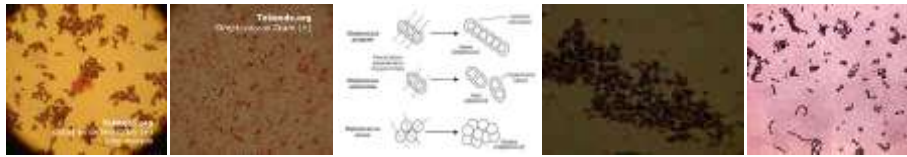
Prueba de la reducción de nitratos

Sirve para determinar la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitritos. Para ello, el medio manitol movilidad incorpora 1 g/l de potasio nitrato y para revelar la presencia de nitritos después de su incubación se añaden los reactivos A y B de Griess-Ilosvay en cantidades iguales (1ml aproximadamente). Un cambio de color (rojo) dentro de los 30 segundos indica prueba completa con resultado positivo. Si no cambia de color, se agrega directamente al tubo una pizca (unos 20 mg) de polvo de zinc purísimo, totalmente exento de nitratos o nitritos, y se observa el cambio de color durante otros 30 segundos, al cabo de los cuales se realiza la interpretación final. Las enterobacterias son generalmente nitratos (+). Esta prueba se utiliza principalmente para diferenciar entre sí determinadas bacterias de los géneros *Haemophylus* y *Neisseria*.



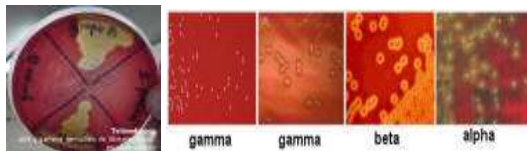
Los cocos Gram positivos pueden ser:

Staphylococcus o *Streptococcus*



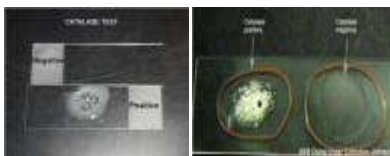
Prueba de hemólisis en agar sangre

Detecta la presencia de **hemolisina**, enzima que permite la clasificación de los *Streptococcus* en **alfa** (hemólisis parcial, incompleta que torna color verdoso), **beta** (hemólisis total) y **gamma** hemolíticos (no existe hemólisis)..



Prueba de catalasa distinguir *Staphylococcus* de *Streptococcus*

Bacterias que viven en ambientes aerobios requieren de **catalasa** para convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular. Es positiva la prueba cuando se ponen en contacto una bacteria con actividad catalasa con **H₂O₂ 3%** y se producen **burbujas** de oxígeno. Se emplea para diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa **positivo**) del género *Streptococcus* (catalasa **negativo**).



Prueba de manitol sal para *Staphylococcus*

Medio **selectivo** y **diferencial** para el aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*. **NaCl 7,5%** le proporciona lo selectivo ya que si o estos microorganismos osmotolerantes u osmfilos pueden multiplicarse en él. **Manitol** es el único azúcar fermentado por las cepas patógenas de este género bacteriano. La producción de ácidos proveniente de la fermentación del manitol es detectada por el viraje del indicador de Ph presente en el medio (rojo fenol) a **amarillo**. *Staphylococcus epidermidis* no fermenta el manitol, dar lugar a colonias pequeñas rodeadas de un halo púrpura.



Prueba de coagulasa para *Staphylococcus*

Permite diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulasa **positivo**) del resto de especies de *Staphylococcus* (coagulasas negativos). La técnica en tubo detecta coagulasa libre y ligada.

Mecanismo de acción de la **coagulasa libre: procoagulasa** (enzima extracelular bacteriana) reacciona con un factor activador presente en el **plasma sanguíneo** similar a la protrombina, dando lugar a un complejo análogo a la trombina (coagulasa propiamente dicha) que reacciona con fibrinógeno formando un coágulo de fibrina en ausencia de Ca^{2+} . La **coagulasa ligada** o factor de agregación actúa directamente sobre el fibrinógeno y lo convierte en fibrina. No requiere la presencia de activadores plasmáticos.



Antibiograma con optoquina para *Streptococcus* alfa-hemolíticos

Permite diferenciar *Streptococcus pneumoniae* que es sensible a optoquina, etilhidroxicupreína, Taxo P) de otras especies de *Streptococcus* alfa-hemolíticos, en especial del grupo *viridans* que son resistentes.



Antibiograma con bacitracina para *Streptococcus* beta-hemolíticos

Permite diferenciar estreptococos beta-hemolíticos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*), que son sensibles a bacitracina, del resto de estreptococos beta-hemolíticos que son resistentes. Solo un porcentaje muy pequeño de *Streptococcus* de los grupos B, C y G son sensibles a la bacitracina (Taxo A)

Prueba de CAMP para *Streptococcus* beta-hemolítico

Los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*) producen una proteína difusible y termoestable (**factor CAMP**) que aumenta la beta-hemólisis de *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* (sembrado desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa) produce **esfingomielinasa C** que se puede unir a las membranas de los eritrocitos. Cuando son expuestas al factor CAMP del grupo B, las células sufren hemólisis.

Prueba de bilis esculina para *Streptococcus* gamma-hemolíticos

Los enterococos crecen en presencia de NaCl 6,5%, toleran las sales biliares y pueden hidrolizar la esculina. Estas propiedades se pueden usar para distinguir los enterococos de otros cocos Gram (+) catalasa-negativos. En la prueba positiva, el tubo torna de color **chocolate oscuro**, característico al desdoblar la bilis esculina.

VITEK®

Sistema automatizado para la identificación y pruebas de susceptibilidad

Tarjetas VITEK están listas para usar, y están diseñados para su identificación o las pruebas de sensibilidad utilizando el sistema VITEK. Son porciones individuales, que garantice que las pruebas están perfectamente conservadas antes de su uso. No más grande que una tarjeta de crédito, no son difíciles de guardar o eliminar. Después de la inoculación, se sellan herméticamente y por lo tanto se puede manejar sin ningún riesgo de contaminación.

VITEK identificación

Cada tarjeta de identificación de un total de 30 pozos que contienen sustratos bioquímicos en una forma deshidratada. No hay reactivos adicionales son necesarios, eliminando así cualquier riesgo de omisión o error. La identificación VITEK abarca más de 300 especies encontradas clínicamente, y en el campo industrial.



ANEXO No. 14

Antibiograma

El **antibiograma** es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la sensibilidad de una colonia bacteriana a un antibiótico o grupo de antibióticos.

El antibiograma, una vez realizado, da la siguiente información:

- Grado de sensibilidad de la colonia bacteriana a un determinado antibiótico.
- Diferencia de sensibilidad por parte de la colonia a diferentes antibióticos.

Con esta información, se clasifica el efecto del antibiótico sobre esa determinada colonia en: Resistente (R), Intermedio (I) y Sensible (S).

En el ámbito clínico, el estudio sobre la bacteria causante de la infección y sobre el antibiograma es entregado al médico responsable del paciente. Este último es quien se encarga de decidir el tipo de antibiótico adecuado, dependiendo de los resultados del antibiograma y de otros factores procedentes del paciente, como por ejemplo una alergia a la penicilina.

Tipos de antibiograma

Disco difusor

En una placa de Petri, se siembra la bacteria por “siembra en césped” para que esta pueda crecer de manera homogénea por toda la placa. Acto seguido, se colocan los discos difusores, unas pequeñas cápsulas que contienen antibiótico, que liberan al medio. Las placas se incuban y pasado el tiempo pertinente (varía según la especie de bacteria) se observa. Las bacterias habrán crecido por toda la placa salvo en las zonas impregnadas con el antibiótico.

Dado que la concentración de antibiótico es menor a mayor distancia del disco difusor, llegará un momento en que la bacteria crecerá tolerando la ínfima concentración de antibiótico. A esta distancia se le denomina “radio de inhibición”.

Las propias empresas farmacéuticas que distribuyen los discos difusores tabulan, en centímetros, el radio de inhibición que debería provocar tal antibiótico para ser considerado Sensible, Intermedio o Resistente. El bacteriólogo se ocupa de medir con regla el radio y considerarlo según las tablas.

Sensibilidad bacteriana a los antibióticos

La determinación de la Concentración Inhibidora Mínima (CIM) es la base de la medida de la sensibilidad de una bacteria a un determinado antibiótico. La CIM se define como la menor concentración de una gama de diluciones de antibiótico que provoca una inhibición de cualquier crecimiento bacteriano visible. Es el valor fundamental de referencia que permite establecer una escala de actividad del antibiótico frente a diferentes especies bacterianas.

Hay diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de rutina, y de manera semicuantitativa, las CIM (métodos manuales y métodos automatizados o semiautomatizados). Estos diferentes métodos de rutina permiten categorizar una cierta cepa bacteriana en función de su sensibilidad frente al antibiótico probado. Esta cepa se denomina Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R) al antibiótico.

Ciertas moléculas son representativas de un grupo de antibióticos. Los resultados (S, I, R) obtenidos con estas moléculas pueden ser ampliados a los antibióticos del grupo, que en ese caso no es necesario ensayar (Ejemplo: Equivalencia entre la cefalotina que se ensaya y las restantes cefalosporinas de 1ª generación que no es necesario probar, ya que el resultado puede deducirse del obtenido en la cefalotina). Este hecho permite ensayar un número reducido de antibióticos, sin limitar por ello las posibilidades terapéuticas.

Pruebas de sensibilidad bacteriana in Vitro

• Método de difusión en agar

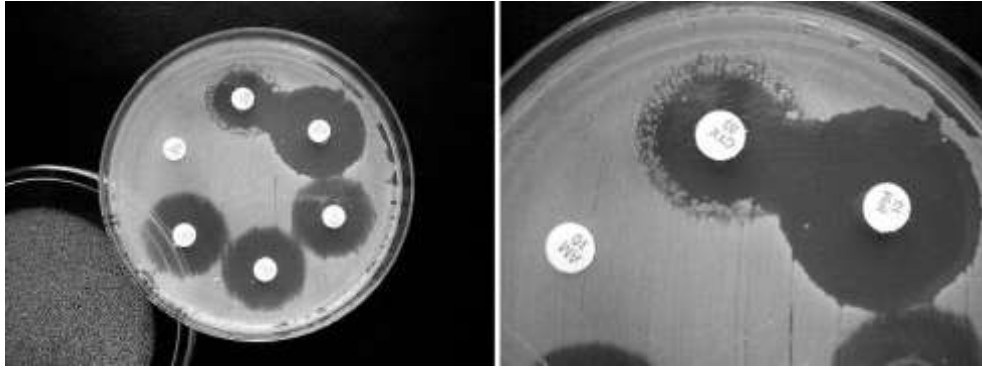
El microorganismo a investigar se inocula en una o varias placas de agar y sobre su superficie se disponen los discos correspondientes a varios antibióticos. Se incuban las placas durante 16-24 horas a 35°C y al cabo de este tiempo se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco y se compara con las referencias oportunas publicadas por el NCCLS. Con esta referencia podemos informar si el microorganismo es Sensible, Intermedio o Resistente (S, I, R) a cada uno de los antibióticos ensayados en las placas.

Antibiograma realizado por el método de difusión en agar

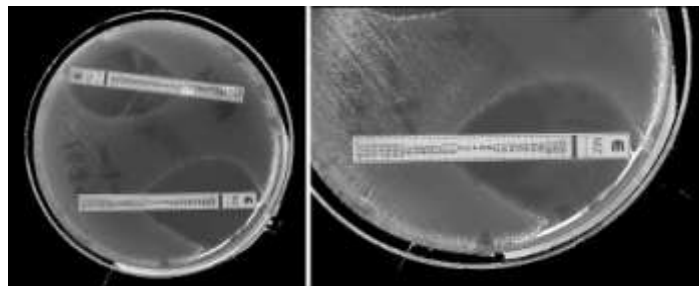
En esta fotografía se muestra un ejemplo de antibiograma realizado por el método de difusión en agar por medio de discos.

En la imagen de la izquierda se muestra una vista general de una placa con crecimiento bacteriano y con seis discos de antibióticos. La zona de color claro que ocupa la mayor parte de la placa es el crecimiento bacteriano en las zonas no inhibidas. Los círculos negros que rodean a cinco de los seis discos marcan las zonas en que los respectivos antibióticos han inhibido, con mayor o menor eficacia, el crecimiento del microorganismo a estudio. El sexto disco (AM-10) no tiene a su alrededor halo de inhibición lo que indica la resistencia del microorganismo a ese antibiótico.

La foto de la derecha, un plano más cercano de la mitad superior de la placa, permite observar con más detalle lo señalado en el párrafo anterior. Puede verse además, con gran claridad, la especial disminución de la intensidad de crecimiento del microorganismo en la zona interior del halo de inhibición del disco de CTX-30, debido probablemente a la aparición de mutantes resistentes de dicho microorganismo capaces de soportar en mayor medida que el resto el efecto inhibitorio del antibiótico.



Pruebas de sensibilidad bacteriana in Vitro



VITEK las pruebas de sensibilidad

Las tarjetas de prueba de susceptibilidad a incluir 30 o 45 pozos que contienen antibióticos deshidratados. Las pruebas específicas para detectar los mecanismos de resistencia se incluyen sistemáticamente en las tarjetas de pruebas de sensibilidad: la resistencia heterogénea (estafilococos), beta-lactamasa de amplio espectro (enterobacterias), alto nivel de resistencia a los aminoglucósidos (Enterococos), penicilinas (estafilococos). El sistema experto VITEK, parte del software VITEK, hace uso de bioMérieux como saber la experiencia en las pruebas de sensibilidad y su interpretación. Todos los resultados de las pruebas de susceptibilidad son un seguimiento sistemático, interpretados y comentados por el sistema experto: la calidad de las respuestas es continuamente revisado.

ANEXO 15

HOJA DE REGISTRO DE INFORMACION

No	RESULTADO DE CULTIVO	BACTERIA AISLADA	SEXO