

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



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura

**“FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS EN HEMOCULTIVOS REALIZADOS A
RECIÉN NACIDOS DEL HOSPITAL NACIONAL DE MATERNIDAD Dr. RAÚL ARGÜELLO
ESCOLÁN, DURANTE EL AÑO 2012”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN LABORATORIO
CLÍNICO.**

PRESENTADO POR:

**CELIA YANETH MARTÍNEZ DE GARCÍA
AMNA NAIN ORANTES FLORES
LUIS ANTONIO RAMÍREZ HERNÁNDEZ**

ASESOR:

LIC. MAURICIO ALEJANDRO VALLADARES MORALES

CIUDAD UNIVERSITARIA JUNIO, 2013

AUTORIDADES

Rector:

Ing. Mario Roberto Nieto Lovo

Vicerrector Académico:

Maestra Ana María Glower de Alvarado

Vicerrector Administrativo:

Lic. Salvador Castillo (Interino)

Facultad de Medicina:

Decano: Dr. José Arnulfo Herrera Torres

Vicedecano: Lic. Roberto Enrique Fong Hernández

Escuela de Tecnología Médica:

Directora: Lic. Dalide de linares

Carrera de Licenciatura en Laboratorio Clínico:

Director: Lic. Luis Roberto Paniagua

DEDICATORIAS

- Gracias a Dios todopoderoso por darme fuerzas cada mañana, por cuidarme siempre en el camino que emprendía, por todas las personas que pusiste en mi vida, sin ti no sería nada.
- A mis padres: por su ejemplo y sus consejos, en especial a mi madre Gloria Ester Guadron, por estar siempre en los momentos más importantes de mi vida, por todo su amor y apoyo incondicional a mi vida, gracias por todo lo que con mucho esfuerzo y amor me has dado, por ser mi ángel en la tierra.
- A mi esposo: Eduardo Josué García por permitirme formar parte de tu vida, gracias amor por tu paciencia, por tu compañía, por ayudarme en casa mientras yo estudiaba y por creer en mí, no sé como expresar todo lo que significas en mi vida, te Amo inmensamente.
- A mi hijo: Eduardito mi más grande tesoro, mi motivación y mis ganas de salir adelante, sus abrazos me confortaban y desvanecían mi cansancio. Por sus dulces palabras “mamita no te duermas, tienes que estudiar” eres lo más bello y el amor más puro en mi vida.
- A mis hermanos: por preocuparse por mí por compartir su vida conmigo, y por estar en todos los momentos más importantes de mi vida.
- A mis suegros: por su apoyo, por sus consejos, porque ayudaron a que este gran esfuerzo se hiciera realidad, Porque sé que sin su ayuda nada de esto sería posible.
- A mis compañeros: Amna y Luis, gracias por los desacuerdos que nos llevaron a hacer las cosas mejor, por permitirme conocer su vida, por su tiempo, por convertirse en mis amigos.

Celia Yaneth Martínez de García.

Al concluir las ciencias textuales, queda un mundo abierto, para seguir filosofando.

Paso al marco de los agradecimientos:

- Agradezco a Jehová de los ejércitos por su macroayuda, para despertar mi inteligencia para llegar al éxito.

- A mis padres, Fredy Naín Orantes y Flor Milar Flores de Orantes, por sus grandes esfuerzos, para aportarme después de su amor, todos los materiales necesarios para concluir mis estudios.

- A mi hermana, Flor Yasmin Orantes, por su apoyo incondicional y comprensión a mi persona.

- A todos los feligreses que de una u otra forma oraban por mí, para mi equilibrio.

- A mis compañeros de tesis, Celia Yaneth y Luis Antonio por la armonía que tuvimos, para sacar el producto de las ciencias

- A todos los docentes que iluminaron mi mente con las ciencias del saber, para que yo pudiese caminar por el sendero del servicio y bienestar de la humanidad.

Amna Nain Orantes Flores.

Dedico este trabajo a todas aquellas personas que de forma directa o indirectamente estuvieron acompañándome y por sus oraciones a Dios, convirtiendo en una realidad este trabajo que me permite dar un gran paso en mi vida.

Agradezco a Dios en primer lugar por haberme dado la vida y la bendición de poder estudiar y alcanzar este sueño, por iluminar mi camino, en los momentos más difíciles su presencia hizo sentir junto a mí, a la Virgen María que con ese amor materno siempre intercede por mí ante nuestro señor Jesucristo.

A mis padres: Eduardo Ramírez Ramírez y María Elena Hernández de Ramírez los cuales con un gran esfuerzo y sacrificio hicieron posible mis estudios para que pudiera alcanzar a este sueño anhelado pues sin ellos nada de esto hubiese sido posible, a pesar de cualquier dificultad lograron sacarme adelante. A mi comunidad católica Misioneros de Jesús Analco Zacatecoluca donde persevero, por llevarme siempre en sus oraciones.

A mis compañeras de tesis por ser excelentes personas, amigas y colegas.

Luis Antonio Ramírez Hernández.

ÍNDICE

Contenido	N° de Pág.
INTRODUCCIÓN.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVOS.....	10
MARCO TEÓRICO.....	11
DISEÑO METODOLÓGICO.....	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	37
RECOMENDACIONES.....	38
ANEXOS.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los recién nacidos pasan de un entorno estéril a un mundo en el que existe una gran diversidad de microorganismos. La colonización bacteriana y de otros microorganismos es inevitable.

Las septicemias son uno de los procesos patológicos más graves en la actualidad, que frecuentemente afectan a los recién nacidos, muchos de estos agentes bacterianos pueden entrar al líquido amniótico o colonizar al neonato a su paso por el canal del parto. Existen factores que agravan la situación, como bajo peso al nacer, introducción de catéteres endovenosos o arteriales centrales contaminados etc.

El hemocultivo es un método diagnóstico en medicina empleado para detectar infecciones a través del torrente sanguíneo, por lo tanto la detección rápida de una bacteria en sangre tiene gran importancia para el pronóstico, diagnóstico y tratamiento, constituyendo uno de los exámenes de mayor importancia realizados en el laboratorio clínico.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el área de bacteriología del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Maternidad se procesan diariamente alrededor de 12 hemocultivos procedente de los diferentes servicios de recién nacidos con el propósito de investigar la presencia y reproducción de microorganismos en sangre, aislando frecuentemente diferentes agentes bacterianos que son causantes de septicemias en esta población en estudio, que en el peor de los casos termina en muerte.

Actualmente no existen estudios actualizados que evidencien la frecuencia bacteriana en los aislamientos realizados a partir de hemocultivos procedentes de los servicios de recién nacidos. Por tanto es necesario conocer dicha información la cual permita a las autoridades de salud correspondientes establecer y adoptar nuevas medidas sanitarias y clínicas necesarias como también la realización de estudios frecuentes sobre el comportamiento y frecuencia con que son aislados estos agentes bacterianos a partir de hemocultivos procedentes de recién nacidos.

En relación a lo antes planteado surgen las siguientes interrogantes:

¿Cuáles serán las cinco bacterias aisladas con mayor frecuencia en hemocultivos positivos realizados a recién nacidos?

¿Cuál es la bacteria de mayor prevalencia en hemocultivos positivos en recién nacidos?

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad las septicemias bacterianas continúan siendo un problema de salud en los servicios hospitalarios de nuestro país, incluyendo los servicios de atención de recién nacidos del Hospital Nacional de Maternidad. En el peor de los casos este proceso patológico finaliza con la muerte del recién nacido.

Existen muchos factores de riesgo que predisponen la introducción de bacterias al torrente sanguíneo como: La transmisión vertical durante el parto, el grado de prematurez, la contaminación bacteriana de catéteres endovenosos o arteriales centrales, la desnutrición entre otros. En el área de bacteriología del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de Maternidad el hemocultivo constituye uno de los exámenes más importantes para la investigación de estos procesos infecciosos logrando el aislamiento e identificación de los microorganismos involucrados actualmente apoyado con equipos automatizados de alta sensibilidad y especificidad.

En la actualidad se desconoce de un estudio actualizado sobre la frecuencia con la que los diferentes agentes bacterianos han sido aislados, siendo así necesaria la actualización de esta información que permitirá conocer del comportamiento frecuencial de los aislamientos a partir de hemocultivos procedentes de recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2,012. Así como también contribuir con el médico a un diagnóstico presuntivo según frecuencias estadísticas de aislamientos antes de obtener un resultado por parte del laboratorio clínico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Investigar las bacterias aisladas con mayor frecuencia a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos que se atendieron en el Hospital Nacional de Maternidad durante el año 2012.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Clasificar según género y especie la frecuencia de aislamientos bacterianos, a partir de hemocultivos en recién nacidos.
- Identificar los cinco agentes bacterianos que se aislaron con mayor frecuencia en hemocultivos que se realizaron a recién nacidos.
- Identificar entre los cinco agentes bacterianos más aislados en hemocultivos, cuales se consideran patógenos o contaminantes.

MARCO TEÓRICO

La importancia de los microorganismos en el desarrollo de enfermedades no fue tan inmediatamente obvia para la población, transcurrieron muchos años e investigaciones hasta que los científicos establecieron la conexión entre microorganismos y enfermedades. Este reconocimiento del papel de los microorganismos dependió fundamentalmente del desarrollo de nuevas técnicas para su estudio. (Prescott, Lansing M., 2004,7)

La mayoría de los recién nacidos pasan de un entorno estéril a un mundo en el que abundan los microorganismos en el momento del nacimiento. La colonización por bacterias y otros microorganismos es inevitable, pero la exposición a microorganismos más virulentos antes de que se establezca una flora normal equilibrada e inhibidora puede causar enfermedad. Los prematuros o los recién nacidos patológicos pueden carecer de defensas que funcionen completamente, y es probable que sean sometidos a múltiples procedimientos diagnósticos, terapéuticos y de monitorización agresivos que alteran las barreras frente a la infección.

(MARK, 1999)

La sangre se cultiva para buscar e identificar bacterias o microorganismos cultivables. La presencia de dichos microorganismos en sangre se denomina bacteriemia o fungemia, y suele ser anormal. En los individuos sanos la sangre es estéril. (OMS, 1993,21)

La bacteriemia y el shock séptico son procesos íntimamente relacionados. El término bacteriemia indica la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo. El shock séptico es la sepsis acompañada de hipoperfusión e hipotensión refractarias al tratamiento con líquidos.

El término sepsis se refiere a una infección grave, localizada o bacteriemia, que cruza con manifestaciones sistémicas de inflamación. La sepsis debida a bacteriemia es llamada muchas veces septicemia; este término, usado con frecuencia de forma imprecisa, se desaconseja en la actualidad. La denominación más general “síndrome de respuesta inflamatoria sistémica” reconoce que varios trastornos graves pueden desencadenar una reacción inflamatoria aguda, cuyas manifestaciones sistémicas se asocian con liberación hacia el torrente sanguíneo de un gran número de mediadores endógenos de la inflamación. (Mark H., 1999,1149) (Ver anexo 1)

La bacteriemia puede ser transitoria, intermitente o continua, lo que refleja los diversos mecanismos por los cuales las bacterias ingresan en el torrente sanguíneo. La bacteriemia transitoria se produce cuando los microorganismos, a menudo miembros de la flora normal, ingresan a la sangre a través de un trauma mínimo de las membranas (p.ej... cepillado de dientes, esfuerzos durante las evacuaciones intestinales o procedimientos médicos). La bacteriemia intermitente ocurre cuando las bacterias de un sitio infectado se liberan en forma periódica a la sangre desde un absceso extravascular, una celulitis diseminada o infecciones de las cavidades del cuerpo, como empiema, peritonitis o artritis séptica. La bacteriemia continua endotelio (endocarditis bacteriana o aneurisma) o por dispositivos infectados. (Stephen Allen, 2006, 96)(Ver Anexo 2)

CAUSAS DE BACTERIEMIA

1. Muchas bacteriemias localizadas suelen acompañarse de bacteriemia transitoria: meningitis, neumonía, pielonefritis, osteomielitis, artritis, peritonitis, colecistitis, enterocolitis, infecciones de heridas traumáticas o quirúrgicas, úlceras de decúbito, etc.
2. La bacteriemia es característica de ciertas enfermedades infecciosas (Fiebre tifoidea, brucelosis, leptospirosis).
3. La bacteriemia puede ser el resultado de la introducción iatrógena de microorganismos por vía intravenosa (a través de líquidos intravenosos, catéteres o puntos de punción contaminados).
4. Diversas manipulaciones quirúrgicas pueden ocasionar una bacteriemia pasajera, pero generalmente esta desaparece espontáneamente en las personas sanas.
5. La bacteriemia continua es característica de las infecciones endovasculares, por ejemplo, endocarditis, aneurisma infectado, tromboflebitis.
6. La bacteriemia y la funguemia pueden presentarse en los usuarios de drogas intravenosas. A menudo están causadas por microorganismos oportunistas y pueden tener graves consecuencias. (OMS, 1993,21)

Las septicemias bacterianas son unos de los procesos patológicos más graves que en la actualidad frecuentemente afectan a recién nacidos, muchas de estas bacterias involucradas se pueden encontrar en el canal del parto (*Streptococos* del grupo B, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus influenzae*, etc.), además

durante el embarazo y el parto suelen presentar infecciones cuyos microorganismos pueden entrar al líquido amniótico o colonizar al neonato a su paso por el conducto del parto. El riesgo es mucho más elevado cuando existen factores que disminuyen la resistencia innata del lactante (prematurez) o incrementan las posibilidades de transmisión por membranas amnióticas rotas (Champoux, James J., 2005,312).

Sepsis neonatal, infección bacteriana invasiva que aparece durante las primeras cuatro semanas de vida. Afecta a 0.5-8.0/1.000 nacidos vivos y alcanza sus tasas más elevadas entre los de bajo peso al nacimiento, los que sufren depresión respiratoria y los hijos de madres con factores de riesgo perinatal. El riesgo es mayor en los niños que en las niñas (2:1) y en los recién nacidos con malformaciones congénitas, especialmente del aparato gastrointestinal.

Las complicaciones obstétricas, por ejemplo, la ruptura prematura de membranas (RPM) entre 12 y más de 24 horas antes del parto, la hemorragia materna (placenta previa, desprendimiento prematuro de la placenta), la toxemia, el parto precipitado o la infección materna (sobre todo de la vía urinaria o del endometrio, que se manifiesta la mayor parte de las veces con fiebre materna inmediatamente antes o durante el parto) son factores que predisponen el desarrollo de sepsis en el recién nacido.(Mark H., 1999, 2181)

- La sepsis neonatal de aparición temprana se presenta más a menudo dentro de las 24 horas después del nacimiento. El bebé contrae la infección de la madre antes o durante el parto. Los siguientes factores incrementan el riesgo para un bebé de padecer este tipo de sepsis:

- Infección durante el embarazo con Estreptococos del grupo B.

- Parto prematuro.
 - Ruptura de membranas que dura más de 24 horas antes del nacimiento.
 - Infección de tejidos de la placenta y líquido amniótico (corioamnionitis).
- Los bebés con sepsis neonatal de aparición tardía resultan infectados después del parto.

Los siguientes factores aumentan el riesgo para un bebé de padecer este tipo de sepsis:

- Tener un catéter durante mucho tiempo en un vaso sanguíneo.
- Permanecer en el hospital por un periodo de tiempo prolongado.(Lee, 2011)

PREVENCIÓN DE SEPSIS NEONATAL:

Se puede administrar antibióticos profilácticos a mujeres embarazadas que tengan corioamnionitis, estreptococos del grupo B o que antes hayan dado a luz a un bebé con sepsis debido a las bacterias.

El hecho de prevenir y tratar las infecciones en las madres, brindándoles un ambiente limpio al nacer, y dar a luz al bebé dentro de las 24 horas siguientes a la ruptura de la bolsa de las aguas, cuando sea posible, puede ayudar a disminuir la probabilidad de que se presente sepsis neonatal. (Lee,2011)

Algunos lactantes están sanos al nacer pero la infección bacteriana puede darse con la introducción de catéteres endovenosos o arteriales centrales contaminados por

microorganismos formadores de biofilms capaces de crecer en ellos. (Prescott, Lansing M., 2004,669)

LA SANGRE

La sangre es un tipo de tejido conjuntivo especializado, con una matriz coloidal líquida y una constitución compleja. Como todo tejido, la sangre se compone de células y componentes extracelulares (su matriz extracelular). Estas dos fracciones tisulares vienen representadas por:

Los elementos formes: son variados en tamaño, estructura y función, constituyen alrededor del 45% de la sangre. Encontramos los glóbulos rojos: También llamados eritrocitos, tienen la función de transportar el CO₂ y los gases. Las plaquetas o trombocitos: cumplen un papel muy importante en la coagulación. Los glóbulos blancos o leucocitos, tienen una función defensiva.

El plasma sanguíneo: un fluido traslúcido y amarillento, de sabor salado, que representa la matriz extracelular líquida en la que están suspendidos los elementos formes. Está compuesto por agua en su mayoría (90%) y disuelta en ella, hay múltiples sustancias, las más abundantes las proteínas. Constituye el 55% del volumen sanguíneo total (el 20% del líquido extracelular) y es una de las reservas líquidas corporales. El plasma sanguíneo, se encuentra permanentemente en movimiento gracias al sistema circulatorio.

El color de la sangre es debido al pigmento hemoglobina contenido en los eritrocitos. El color rojo de la sangre varía de acuerdo a la cantidad de oxígeno. La hemoglobina de la sangre

arterial está saturada de oxígeno y tiene un color rojo claro. La sangre venosa es de color rojo oscuro debido a la falta de oxígeno presente. Debido a su contenido de sales y a la importancia de presencia de hierro, la sangre tiene un sabor salado y ligeramente metálico. Debido a la escasa presencia de ácidos grasos volátiles procedentes del metabolismo no tiene un olor netamente definido. La densidad normalmente se encuentra entre 1.042 y 1.056. La densidad del plasma es de 1.019 a 1.029 y la de los eritrocitos de 1.084 a 1.098. Los valores del pH de la sangre se encuentran entre 7,35 y 7,45. La temperatura de la sangre es de 38°C, el plasma transporta calor e interviene en la regulación de la temperatura corporal. La Viscosidad es de 3.6 a 5.8 con promedio de 5 para los hombres y de 4.5 para las mujeres.

EL HEMOCULTIVO:

Es un cultivo microbiológico de la sangre. Es un método diagnóstico en medicina empleado para detectar infecciones que se transmiten a través de torrente sanguíneo.

Además, la necesidad de realizar hemocultivos deriva de los siguientes hechos: 1.- El aislamiento de una bacteria en los hemocultivos aporta una valiosa información a la hora de elegir el tratamiento antimicrobiano adecuado. 2.- El hemocultivo no es una técnica costosa y su obtención no conlleva ningún riesgo para el paciente. 3.- Las características clínicas de la bacteriemia y las situaciones en que puede presentarse son tan variadas que no permiten establecer un diagnóstico clínico con suficiente certeza. (Vivas, 2003)

La cantidad de sangre que se cultiva a través de la venopunción es: En niños debe ser al menos 2.5 ml y en adultos usualmente 5ml, aunque sería preferible cultivar 10ml, la relación

entre sangre y caldo de cultivo debe ser siempre 1:10, es decir sangre al diez por ciento en caldo, con el objeto de evitar la coagulación de la sangre. (Ver Anexo 3)

Se necesita realizar una asepsia con alcohol etílico, jabón de yodo y solución de yodo a la piel del paciente en donde se realizará la venopunción con el propósito de evitar el ingreso de bacterias de la flora bacteriana normal del paciente al interior del frasco que contiene el medio especial para hemocultivo. (Ver Anexo 4)

Si se realizan hemocultivos seriados en los pacientes la probabilidad de descubrir un microorganismo patógeno en la sangre incrementa y se reduce la probabilidad de que éste microorganismo no se trate de un contaminante proveniente de la piel del paciente en este caso del recién nacido. En condiciones normales no se detectan bacterias en la sangre. Estas penetran hacia el torrente circulatorio desde sitios extravasculares, por los vasos linfáticos. Cuando las bacterias se multiplican a una velocidad que excede la capacidad del sistema retículo endotelial para removerlas de la sangre se da el inicio de una septicemia. (Ver Anexo 5)

Los signos y síntomas que indican la necesidad de realizar un hemocultivo son: Fiebre o hipotermia, hipotensión, taquicardia, taquipnea, exantemas cutáneos, diátesis hemorrágicas. (Ferri, Fred F., 1999, 428)

La recuperación de la bacteria involucrada que puede estar presente en la sangre en ese momento depende de estos factores:

1. La presencia de inhibidores bacterianos en el suero, tales como anticuerpos, complemento o antibióticos.
2. Los métodos de cultivo en el laboratorio.
3. Las características de la bacteria de ser “fastidiosa”, es decir que requiere un medio de cultivo enriquecido y complejo. (Torres, 129-130, 1966)

El momento óptimo para la extracción de hemocultivos es inmediatamente antes del pico febril. Como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda que la sangre para el cultivo se extraiga lo antes posible después del comienzo de la fiebre. La muestra de sangre debe extraerse siempre que sea posible por punción venosa, la utilización de sangre arterial no ha demostrado ventaja sobre la venosa.

Aunque, la contaminación de la sangre cuando se obtiene a través de catéteres venosos o arteriales es frecuente, especialmente en recién nacidos y lactantes, y la dificultad para obtenerla por punción venosa es un problema real por lo cual se obtiene sistemáticamente por medio de catéteres. En estos casos es imprescindible seguir con el catéter las mismas normas de asepsia que se indican para la desinfección de la piel.

En el área de bacteriología los hemocultivos se introducen en el equipo automatizado de incubación BacterAlert el cual emite una alarma de aviso cuando en alguno de estos frascos ha ocurrido un crecimiento bacteriano identificando y revelando su posición del frasco dentro del panel de incubación para que sea extraído. (Ver Anexo 6,7 y 8)

Una vez extraído se hace lo siguiente: Se realiza una asepsia en el área engomada del frasco utilizando alcohol etílico y solución de yodo al 3 por ciento, luego con una jeringa estéril se

extrae una cantidad necesaria del medio para realizar un frotis y colorearlo con la tinción de Gram, se observa al microscopio el tipo de bacteria según morfología y reacción al Gram como también descartando de que se trate de una levadura a la cual se le realiza otro procedimiento, tratándose de una bacteria se inocula una placa de Agar Sangre, una de Agar Mac Conkey y una de Agar Chocolate incubándolas por 24 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ en atmósfera con 5% de CO_2 , obteniendo un cultivo puro, realizando automatizadamente la identificación bacteriana así como la sensibilidad frente a una gran variedad de antibióticos. (Ver Anexos 9,10,12,13 y 14)

VARIABLES QUE AFECTAN EL RENDIMIENTO DEL HEMOCULTIVO

- Correcta selección clínica de los pacientes.
- Momento en el que se toma el hemocultivo.
- Asepsia de la piel y limpieza del tapón del frasco.
- Volumen de sangre cultivada.
- Número de hemocultivos obtenidos.
- Tipo de frasco utilizado.
- Tiempo de incubación (Tecno diagnostica, 2012,32)

Diversos estudios realizados en otros países como Cuba, Estados Unidos, México y España nos brindan una amplia información sobre estos sucesos bacterianos de gran importancia logrando la obtención de perfiles bacterianos gracias a estos logran evitar en un gran

porcentaje subestimaciones imprecisas en el diagnóstico. Durante el período neonatal las septicemias permanecen como una causa importante de morbilidad y mortalidad, a pesar de los grandes adelantos en el cuidado intensivo neonatal y el uso de antibióticos de amplio espectro.

La Organización Mundial de la Salud plantea también que del total de los recién nacidos vivos en los países en vías de desarrollo, aproximadamente 20 por ciento evoluciona con una infección y 1 por ciento fallece debido a un sepsis neonatal. (Deniz G., María I. Vol. 12. 2008)

Otras fuentes ubican la incidencia de la sepsis neonatal en 5 y 6 por 1000 recién nacidos vivos; en los de muy bajo peso aumenta notablemente hasta unos 300 por 1000 prematuros. Igualmente varía de una sala de neonatología a otra, según la presencia de trastornos que predisponen a los neonatos a la infección.

Estas investigaciones revelan perfiles bacteriológicos en los cuales encontramos los siguientes Géneros y especies involucrados: *Staphylococcus aureus* (incluidas cepas multirresistentes), *Stafilococcus coagulasa negativo*, *Enterococcus* y gramnegativos entéricos multirresistentes, especies de *Streptococcus*, *Neisseria meningitidis*, etc. Resulta específicamente este, el objetivo fundamental de este estudio, o sea establecer la frecuencia de aislamientos bacterianos a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos que permitirá enfrentar con mayor certeza estos microorganismos a través de diagnósticos presuntivos aun antes de tener respuesta por parte del Laboratorio Clínico. La introducción de sistemas automatizados entre ellos: MicroScanWalkAway Plus, el Sistema Vitek, el BacterAlert son una innovación para el estudio bacteriológico y de otros microorganismos

siendo una herramienta fundamental para la detección, identificación, aislamiento e incluso la sensibilidad frente a muchos antibióticos

Género: *Staphylococcus*

Los cocos grampositivos son un grupo heterogéneo de bacterias. Las características que tienen en común son su forma esférica, su reacción a la tinción de Gram y la ausencia de endosporas. La presencia o ausencia de actividad catalasa es una prueba sencilla que se utiliza para subdividir las en varios géneros. Las catalasas son enzimas que cataboliza peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso. cuando se pone en contacto una gota de solución de peróxido de hidrógeno con una colonia productora de catalasa, aparecen burbujas a medida que se forma oxígeno gaseoso.

El nombre del género *Staphylococcus* procede del griego *staphylé* « racimo de uvas». Por tanto la designación de *Staphylococcus* a que las células de estos cocos se desarrollan en un patrón que recuerda a un racimo de uvas, sin embargo, los microorganismos presentes en muestras clínicas aparecen como células aisladas, en pares o en cadenas cortas. La mayor parte de los estafilococos tiene un diámetro de entre 0.5 y 1 μm y son anaerobios facultativos (es decir, crecen aerobia y anaerobiamente) inmóviles capaces de crecer en un medio con una elevada concentración de sal (p.ej., cloruro de sodio al 10 %) y a temperaturas desde 18 hasta 40°C.

Las bacterias del género *Staphylococcus* conforman un importante grupo de patógenos en el ser humano y originan un amplio espectro de enfermedades sistémicas que pueden poner en peligro la vida, infecciones de la piel, las partes blandas, los huesos y el aparato genito urinario e infecciones oportunistas. (MURRAY, 2008)

Staphylococcus epidermidis:

El *Estafilococo epidermidis* es una de 33 especies conocidas pertenecientes al género *Staphylococcus*. Es parte de la flora comensal de la piel y en consecuencia se considera parte de la flora humana. Porción externa de la piel (de la epidermis o porción externa de la piel).

Aunque el *Estafilococo epidermidis* no suele ser patógeno, los pacientes con sistemas inmunes comprometidos son a menudo blanco de desarrollar una infección. Estas infecciones pueden ser tanto nosocomiales o adquiridas en la comunidad, pero que representan una amenaza mayor para los pacientes del hospital. Este fenómeno puede ser el resultado de un uso continuo de antibióticos y desinfectantes en los hospitales, lo que lleva a la presión evolutiva hacia cepas más virulentas y resistentes del organismo. *Estafilococo epidermidis* es también una preocupación importante para las personas con catéteres u otros implantes quirúrgicos, ya que se sabe que causa las biopelículas que crecen en estos dispositivo de plástico que se colocan dentro del cuerpo, esto ocurre más comúnmente en los catéteres intravenosos y prótesis médicas. La infección también puede ocurrir en pacientes sometidos a diálisis o a cualquier persona con un dispositivo plástico implantado que puede haber sido contaminado.

Se clasifica como **catalasa positivo, coagulasa negativo y anaerobio facultativo** que puede crecer mediante la respiración aeróbica o por fermentación, es positivo para la producción de ureasa, y se puede utilizar la glucosa, sacarosa y lactosa para formar productos ácidos, en presencia de lactosa, también produce gas, es sensible a la Novobiocina, una prueba importante para distinguirlo del *Staphylococcus saprophyticus*, que es Novobiocina resistentes.

Staphylococcus hominis:

Staphylococcus hominis es una cepa perteneciente al grupo de los cocos Gram-positivos denominados *Staphylococcus coagulasa negativa*. Si bien es cierto que desde hace varios años se han reconocido como una de las principales causas de infección nosocomial neonatal en las unidades de cuidados intensivos, representando hasta 48% de las mismas, al menos el *Staphylococcus hominis* no ha mostrado ser un agente importante de causa-asociación infección nosocomial, tienen como fuente de contaminación los catéteres intravenosos y, habitualmente posterior a un evento de bacteriemia, uno de los principales cuadros clínicos lo constituye la endocarditis, ambos eventos (bacteriemia y endocarditis) se han visto asociados con *S. epidermidis*, por un lado, y muchos eventos sepsis nosocomial relacionadas con catéter intravascular se han asociado a brotes por cepas de *Streptococcus coagulasa negativa* resultantes de infecciones cruzadas, sobre todo en unidades de cuidados intensivos en general, pero predominantemente en las unidades de recién nacidos.

Staphylococcus haemolyticus:

Staphylococcus haemolyticus es una bacteria gram-positiva. Es un coco, coagulasa negativa y catalasa positiva. Frecuentemente se encuentra como comensal en vertebrados, rara vez causando infecciones en tejido blando y de suceder, normalmente es en pacientes inmunocomprometidos. *Staphylococcus haemolyticus* caracterizado coloniza preferentemente las zonas de piel donde existen glándulas apocrinas, tales como las axilas y el pubis.

Staphylococcus aureus:

Las colonias de *Staphylococcus aureus* son doradas debido a los pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento, de ahí el nombre de la especie. Igualmente, representa la única especie colonizadora del ser humano que produce la enzima **coagulasa**. Cuando se suspende una colonia de *S. aureus* en un tubo con plasma, la *coagulasa* se une a un factor sérico y el complejo convierte el fibrinógeno en fibrina lo que da lugar a un coágulo. Dado que las restantes especies estafilocócicas carecen de la capacidad de producir coagulasa, son conocidas colectivamente como: **estafilococos coagulasa negativa**.

Esta bacteria causa enfermedad mediante la producción de toxinas o a través de la invasión directa y la destrucción del tejido, por ejemplo infecciones cutáneas, endocarditis, neumonía, empiema, osteomielitis y artritis séptica. La producción de enfermedad en presencia de un cuerpo extraño por ejemplo astilla, catéter, anastomosis, prótesis valvular o articular requiere un número significativamente menor de estafilococos. Más del 50% de los casos de bacteriemias por *Staphylococcus aureus* se adquieren en el hospital después de una intervención quirúrgica o como consecuencia del uso continuado de un catéter intravascular contaminado. Las bacteriemias producidas por la mayor parte de los microorganismos tienen su origen en un foco identificable de infección, como una infección pulmonar, del aparato genito urinario o el aparato digestivo, no se conocen los focos iniciales de la infección en aproximadamente un tercio de los pacientes afectados por una bacteriemia por *S. aureus*. Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus* y en especial los episodios prolongados, se asocian a la diseminación a otras partes del organismo, como el corazón.

Familia: *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos de tamaño intermedio 0.3 a 1 X 1 a 6 µm. Son microorganismos ubicuos, se encuentran en forma universal en el suelo, el agua y la vegetación y también en la flora intestinal normal de muchos animales, incluida el ser humano. Producen gran variedad de enfermedades en el ser humano como septicemias, infecciones del aparato urinario y muchas infecciones intestinales. Pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos y no forman esporas, todos los miembros pueden crecer rápidamente de forma aerobia o anaerobia (anaerobias facultativas). Dentro de la familia de las *enterobacteriaceae* encontramos al género *Escherichia*, esta se compone de cinco especies de las que *Escherichia coli* es la más frecuente y la más relevante desde el punto de vista clínico.

Escherichia coli

Escherichia coli es una bacteria gramnegativa, anaerobia facultativa y no formadora de esporas que se encuentra comúnmente en el intestino grueso de los animales de sangre caliente (endotérmicos).

La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inofensivas, pero algunos serotipos pueden causar graves intoxicaciones alimentaria en humanos. Las cepas inofensivas son parte de la flora normal del intestino, y pueden beneficiar a sus huéspedes mediante la producción de la vitamina K₂ y también por impedir el establecimiento de bacterias patógenas en el intestino.

Las cepas virulentas de *Escherichia coli* pueden causar gastroenteritis, infecciones urinarias y meningitis neonatal. En casos más raros, las cepas virulentas son también responsables del síndrome

hemolítico urémico, la septicemia, peritonitis, mastitis, y neumonía. Pero son las 3 primeras condiciones las de más relevancia en salud.

Ciertas cepas de *Escherichia coli* producen toxinas potencialmente letales. La intoxicación alimentaria causada por la *Escherichia coli* puede ser consecuencia de comer verduras sin lavar o carne poco cocida.

La transmisión de patógenos de *Escherichia coli* a menudo se produce a través de transmisión fecal-oral por falta de higiene en la preparación de alimentos, la contaminación agrícola o el consumo de aguas residuales contaminadas.

La septicemia producida por los bacilos gramnegativos como *E. coli* proviene de infecciones del aparato urinario o digestivo (perforación gastrointestinal que provoca una infección intraabdominal) la mortalidad que se asocia a la septicemia por *E. coli* es elevada en pacientes cuya inmunidad esta alterada, o en los que la infección primaria se localiza en el abdomen o en el sistema nervioso central

Identificación Bioquímica para *Escherichia coli*

TSI (Agar tres azúcares y hierro)	A/A o K/A (Acido/Acido o Base/ Acido)
GAS	-
H ₂ S (Ácido Sulfúrico)	-
UREA	-
INDOL	+
RM Rojo de metilo	+
VP Voges proskauer	-
CITRATO	-
MOVILIDAD	+

DISEÑO METODOLÓGICO

- **Tipo de investigación:**

Documental, retrospectivo, analítico, y sincrónico.

- **Universo y muestra:**

Todos los hemocultivos que resultaron positivos a bacterias, realizado a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.

- **Técnica de recolección de datos:**

Análisis estadístico de los resultados de aislamientos bacterianos, a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos durante el año 2012 en el Hospital Nacional de Maternidad Dr. Raúl Argüello Escolán

- **Plan de tabulación y análisis de datos:**

Cuadros o tablas y gráficos.

- **Fuente y obtención de datos:**

Datos proporcionados con la autorización del director del hospital, con la respectiva aprobación del comité de ética y autorización de la jefa del laboratorio clínico y coordinadora del área de bacteriología.

RESULTADOS

Tabla 1:

Frecuencia de aislamientos bacterianos según Géneros y especies a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012

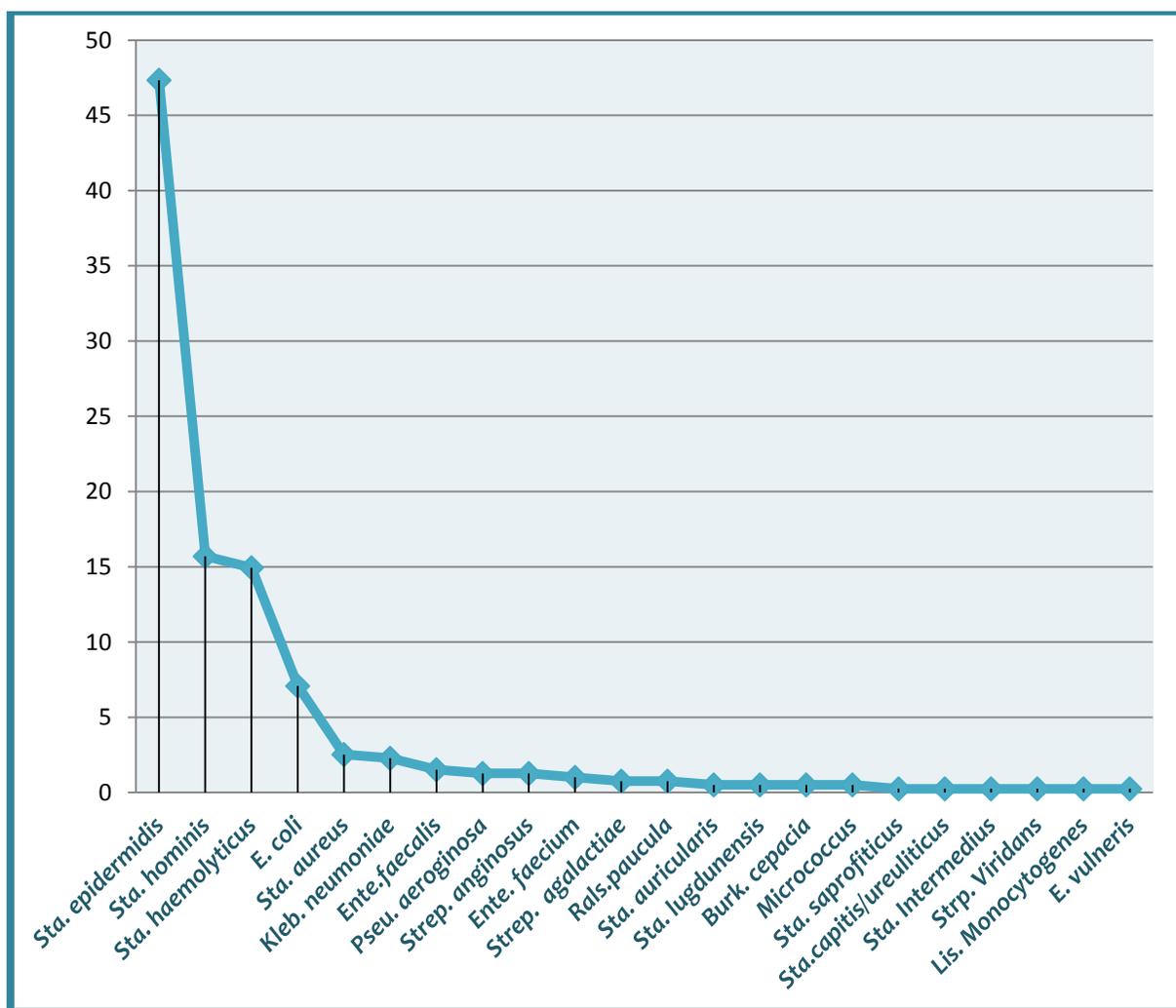
BACTERIA	FR	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	187	47.34
<i>Staphylococcus hominis</i>	62	15.70
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	59	14.94
<i>Escherichia coli</i>	28	7.08
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	2.53
<i>Klebsiella pneumoniae ss pneumoniae</i>	9	2.28
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	1.52
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	1.27
<i>Streptococcus anginosus</i>	5	1.27
<i>Enterococcus faecium</i>	4	1.01
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	0.76

<i>Ralstonia Paucula</i>	3	0.76
<i>Staphylococcus Auricularis</i>	2	0.51
<i>Staphylococcus Lugdunensis</i>	2	0.51
<i>Burkholderia Cepacia</i>	2	0.51
<i>Micrococcus sp</i>	2	0.51
<i>Staphylococcus Saprofiticus</i>	1	0.25
<i>Staphylococcus capitis ss ureuliticus</i>	1	0.25
<i>Staphylococcus Intermedius</i>	1	0.25
<i>Streptococcus Viridans alfa hemoliticus</i>	1	0.25
<i>Listeria Monocytogenes</i>	1	0.25
<i>Escherichia Vulneris</i>	1	0.25
TOTAL	395	100 %

Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”

Gráfico 1:

Frecuencia de aislamientos bacterianos según Géneros y especies a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.



Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”.

Tabla 2:

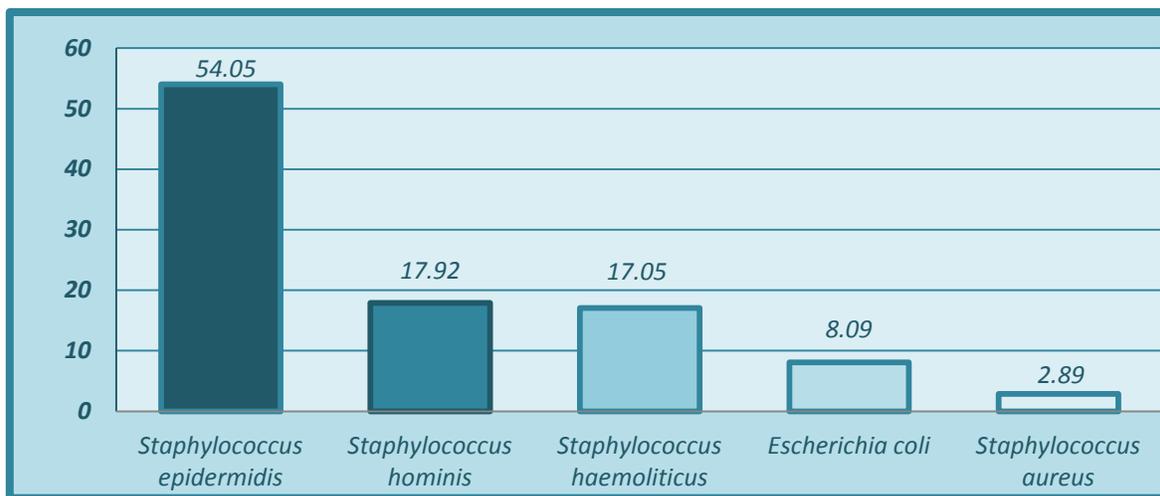
Los cinco agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.

AGENTE BACTERIANO	FR. DE AISLAMIENTOS	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	187	54.05
<i>Staphylococcus hominis</i>	62	17.92
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	59	17.05
<i>Escherichia coli</i>	28	8.09
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	2.89
Total	346	100

Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”

Gráfico 2:

Los cinco agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.



Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”

Cuadro 3:

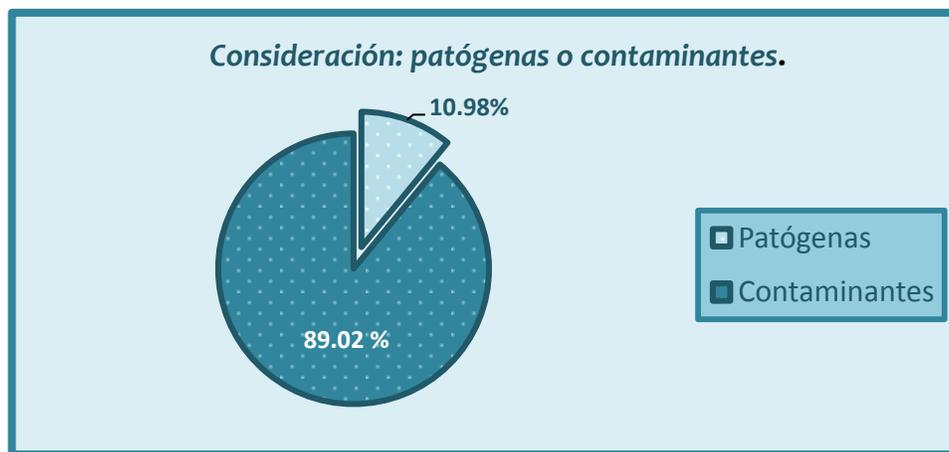
Consideración patógena o contaminante de los cinco agentes bacterianos más aislados a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.

Agente bacteriano	Fr. de aislamientos	%	Patógeno	Contaminante
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	187	54.05		X
<i>Staphylococcus hominis</i>	62	17.92		X
<i>Staphylococcus hemolíticas</i>	59	17.05		X
<i>Escherichia coli</i>	28	8.09	X	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	2.89	X	
Total	346	100	2	3

Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”

Gráfico 3:

Consideración patógena o contaminante de los cinco agentes bacterianos más aislados a partir de hemocultivos realizados a recién nacidos atendidos en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” durante el año 2012.



Fuente: Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”

DISCUSIÓN

La mayoría de los microorganismos son capaces de invadir el torrente sanguíneo; ya que la sangre contiene las condiciones óptimas con temperatura y nutrientes que favorecen el desarrollo de estos.

En el año 2012, se aislaron 22 tipos bacterianos a partir de hemocultivos realizados a los recién nacidos que se atendieron en Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”. Muchos de los recién nacidos presentan condiciones que pueden favorecer la invasión bacteriana entre las cuales podemos destacar: Infección durante el embarazo con *Streptococos* del grupo B, parto prematuro; ruptura prematura de membranas, bajo peso al nacer y corioamnionitis que pueden favorecer el desarrollo de una sepsis de aparición temprana, como también presentarse la sepsis neonatal de aparición tardía, los factores que la predisponen son: permanencia prolongada de dispositivos intravasculares (catéteres) y la prolongada permanencia en el nosocomio.

Durante el año 2012 los cinco agentes que se aislaron con mayor frecuencia fueron los siguientes:

Staphylococcus epidermidis, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Es notable el predominio del género *Staphylococcus* en estos aislamientos los cuales estadísticamente representarían aproximadamente el 90% de ellos. Considerando que las especies *epidermidis*, *hominis*, *haemolyticus* atribuibles al género *Staphylococcus* son parte de la flora normal de la piel de los recién nacidos y del personal hospitalario que atiende a esta población, por tanto destacamos que estas especies bacterianas

aisladas no son verdaderos patógenos que afectan al recién nacido, sino que estos corresponden a las inadecuadas prácticas asépticas realizadas por el personal responsable de tomar las muestras sanguíneas destinadas para la realización de hemocultivos.

Además estas bacterias pueden contaminar diferentes dispositivos intravasculares (catéteres) que son utilizados por prolongados periodos de tiempo en los recién nacidos dada la dificultad de encontrar venas en ellos; Por lo cual no es recomendable tomar sangre para hemocultivo a partir de estos.

Es necesario que el personal encargado de la toma de muestra para hemocultivo sea consciente en las prácticas asépticas ya que de los 346 aislamientos que totalizan la frecuencia de los 5 agentes bacterianos más aislados, 308 correspondieron a ser contaminantes evidenciando la inadecuada utilización de los recursos hospitalarios.

El otro 10% de los aislamientos corresponden a bacterias consideradas verdaderos patógenos entre los cuales se presentaron: Staphylococcus aureus y Escherichia coli, los cuales son de gran importancia clínica siendo los dos patógenos predominantes durante el año 2012.

Staphylococcus aureus puede ser habitante normal de piel y mucosas del personal hospitalario o puede actuar como contaminante en dispositivos vasculares teniendo así entrada al torrente sanguíneo del recién nacido, los cuales en muchas ocasiones presentan factores que favorecen el ingreso, crecimiento y multiplicación bacteriana, esta bacteria al igual que Escherichia coli puede provocar infecciones de vías urinarias y por la proximidad con el aparato reproductor femenino favorecer la transmisión bacteriana durante el parto.

Escherichia coli forma parte de la flora intestinal normal ya que esta contribuye al buen funcionamiento digestivo como a la producción de vitamina k y b, esta también puede estar involucrada en infecciones vaginales, en el momento del parto al atravesar el canal vaginal *Escherichia coli* puede invadir al recién nacido provocando diversas infecciones entre ellas sepsis y en algunas ocasiones corren el riesgo de contaminarse accidentalmente con esta enterobacteria ya que algunas mujeres defecan durante el trabajo de parto.

La consideración patógena o contaminante de los cinco agentes bacterianos mayormente aislados durante el año 2012 se basa en los siguientes criterios:

- Tipo de microorganismos aislados
- Relación clínica sintomática del recién nacido con el microorganismo aislado.
- Número de aislamientos con el mismo agente bacteriano
- Aislamientos precoz (mayor de 48 horas posible contaminante)

En relación a lo anterior son considerados patógenos los siguientes: *Escherichia coli* (enterobacteria) y *Staphylococcus aureus*.

Son considerados contaminantes los siguientes: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*. (Todos ellos coagulasa negativa)

CONCLUSIONES

Con base a los hallazgos obtenidos a través de la presente investigación se puede concluir que:

1. De un total de 395 aislamientos bacterianos realizados en el año 2012 de hemocultivos positivos a bacterias que se realizaron en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” se encontraron 22 tipos de agentes bacterianos clasificados según género y especie.
2. De los 395 aislamientos ocurridos en el año 2012 en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” realizados a recién nacidos 346 corresponden a la frecuencia con la que se presentaron los cinco agentes bacterianos mayormenteo aislados.
3. De los cinco agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia se consideraran patógenas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y contaminantes las especies: *haemolitycus*, *epidermidis* y *hominis* del genero *Staphylococcus*.
4. *Staphylococcus epidermis* fue el microorganismo con mayor frecuencia de aislamientos que corresponde a un total de 187 de un 395 aislamientos que se realizaron en el año 2012.

RECOMENDACIONES

1. A las autoridades y médicos del Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán” en coordinación con el Laboratorio Clínico establecer controles de calidad interno que evalúen específicamente los procedimientos para una buena extracción de muestras sanguíneas destinadas para hemocultivos.

2. A las autoridades y médicos del Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Argüello Escolán”, programar charlas dirigidas al personal de salud correspondientes que permitan actualizar y fomentar los procedimientos asépticos para la toma de muestras de sangre, destinadas a la inoculación de hemocultivos y debido a la vulnerabilidad de la población en estudio es necesario que evalúen continuamente las áreas de atención a recién nacidos a través de controles bacteriológicos con el fin de evitar la sepsis neonatal tardía.

3. Para el personal de enfermería, La extracción de muestras sanguíneas destinadas para la inoculación de hemocultivos deben cumplir las medidas de asepsia; ya que de estas depende el aislamiento de patógenos verdaderos y así evitar el ingreso de bacterias pertenecientes a la flora normal de la piel y así evitar falsos positivos.

4. A los futuros investigadores a continuar investigando dicha problemática y así poder evaluar la frecuencia con la cual se siguen presentando estos agentes bacterianos.

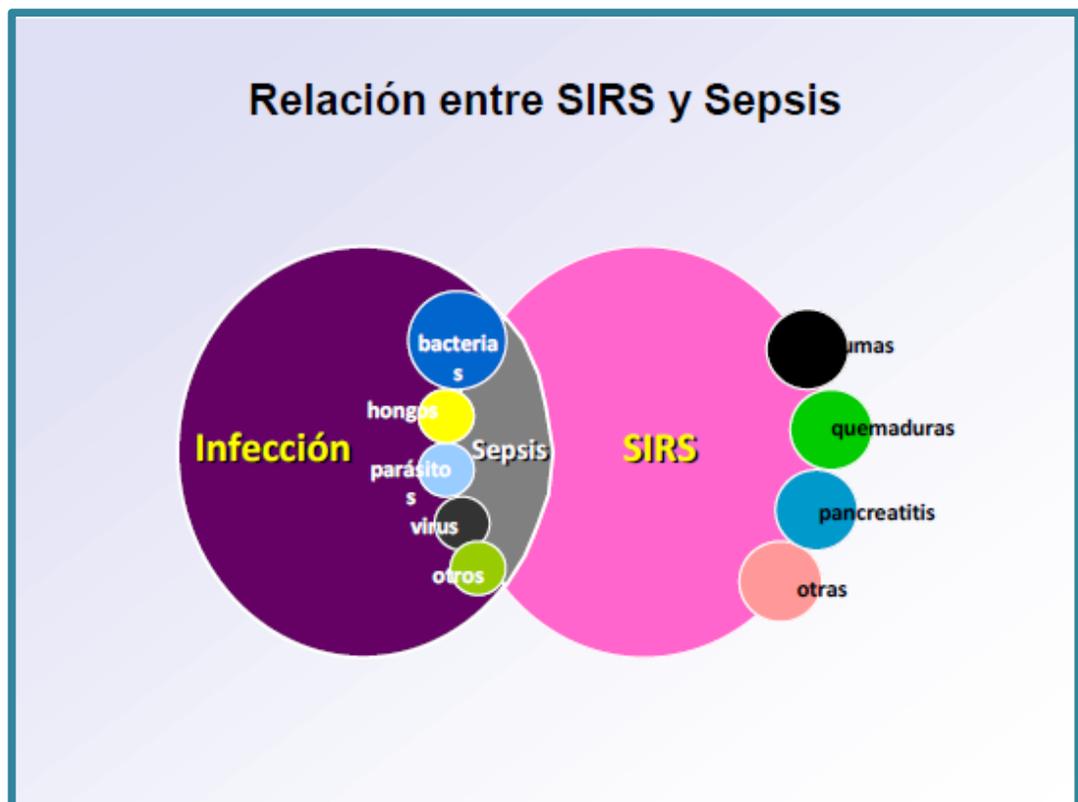
ANEXOS

Anexo 1:

La sepsis y su relación con el síndrome de respuesta inflamatoria Sistémica (SIRS)

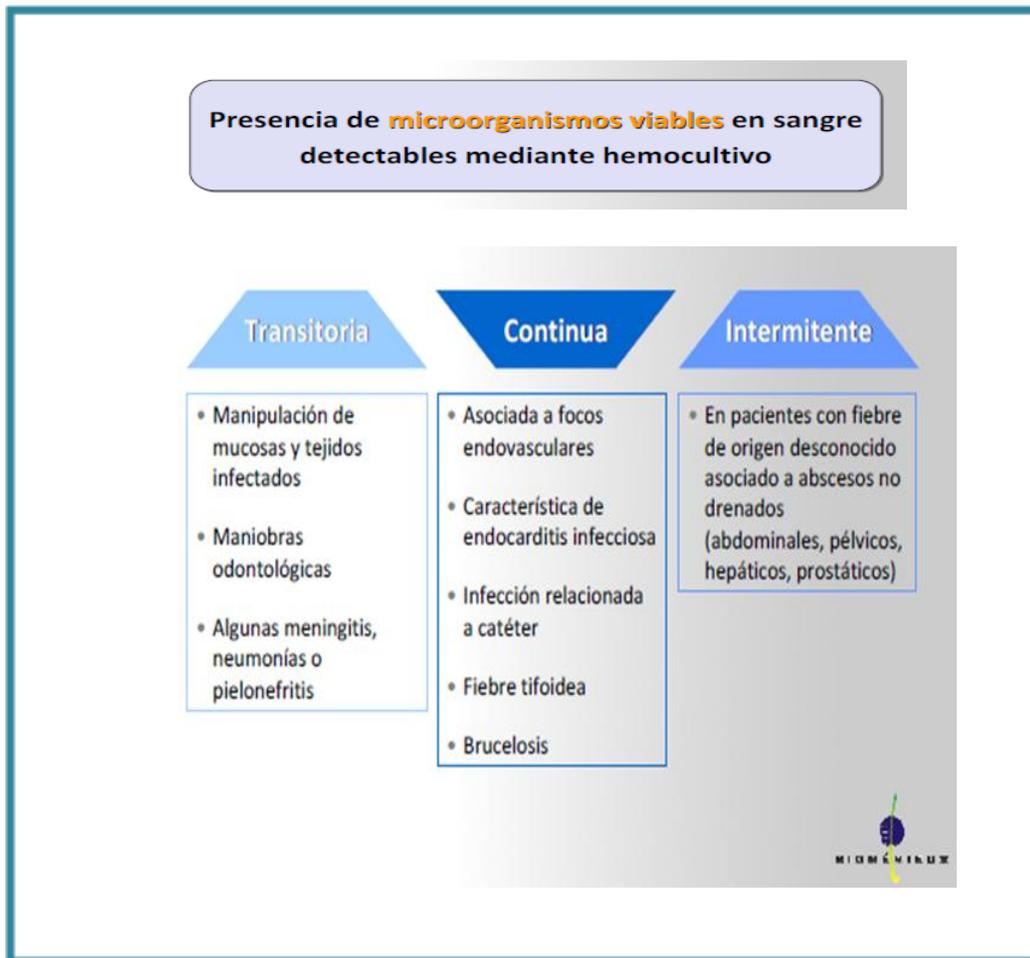
La sepsis es la respuesta del huésped a la infección

La sepsis se define como la presencia del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y una infección confirmado o no confirmado. Los síntomas clínicos que caracterizan SIRS (cambios en la temperatura corporal, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y recuento de glóbulos blancos) no son específicos y pueden ocurrir como resultado de una variedad de agresiones al cuerpo.



Anexo 2:

Definición de bacteriemia y su clasificación



Volumen de sangre a tomar para hemocultivos

¿Qué volumen tomar?

Pediátricos

El volumen recomendado debe obtenerse en base al **PESO** del paciente y a la pérdida de volemia que ello representa

Table 1. Blood volumes suggested for cultures from infants and children^a

Wt of patient		Total blood vol (ml)	Recommended vol of blood for culture (ml)		Total vol for culture (ml)	% of total blood vol
kg	lb		Culture no. 1	Culture no. 2		
≤1	≤2.2	50-99	2		2	4
1.1-2	2.2-4.4	100-200	2	2	4	4
2.1-12.7	4.5-27	>200	4	2	6	3
12.8-36.3	28-80	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>80	>2,200	20-30	20-30	40-60	1.8-2.7

Adaptado de Kellogg et al. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol. 2000; 38:2181-2185

60% de 121 bacteriemias en pacientes con mediana de edad de 0,6 años → **<10 UFC/ml** → **volumen mínimo de esta población nunca debería ser inferior a 1 ml de sangre por punción**

Anexo 4:

Técnica para la toma de hemocultivos

Para realizar hemocultivos, deben seguirse cuidadosamente las siguientes instrucciones:

- 1.** Destapar el frasco con caldo de hemocultivo, para descubrir el tapón de hule perforable. Dejar la tapadera a un lado, y con un algodón empapado con solución de yodo al 3% en alcohol (tintura), limpiar bien el tapón perforable. Dejar secar mientras se atiende al paciente.
- 2.** Colocar la ligadura en el brazo del paciente, luego palpar la vena y localizar con precisión el sitio donde se va a puncionar.
- 3.** Es una buena práctica rutinaria lavar con agua y jabón el brazo del paciente, antes de aplicar desinfectantes. Limpiar el sitio exacto con un algodón empapado en tintura de yodo al 3%. Dejar secar luego limpiar el sitio de punción con algodón empapado en alcohol, con movimientos circulares en forma de espiral que se inicia en el sitio de punción. Después de esta preparación no se debe volver a tocar la vena.
- 4.** Con una aguja y jeringas estériles, puncionar la vena y obtener asépticamente 5ml o más de sangre.
- 5.** Nunca debe cambiarse la aguja después de obtener la sangre, excepto cuando se falla en el intento de hacerlo, se punciona en otro sitio.
- 6.** Inyectar exactamente 5ml en el frasco que contiene 45ml de caldo, o 10ml en un frasco con 90ml de caldo. En los hemocultivos pediátricos inyectar 2.5ml de sangre en 25ml de caldo.

7. El caldo preparado comercialmente que debe usarse, es el caldo thiol, especialmente diseñado para efectuar hemocultivos de pacientes que pudieran haber recibido penicilina, estreptomina o sulfonamidas. El caldo debe contener de 0.025 por ciento a 0.05 por ciento de polienatol sulfato de sodio (SPS). Esta sustancia actúa como anticoagulante, y además inhibe la actividad bactericida del suero y la fagocitosis de los leucocitos, inactiva el complemento y neutraliza lisozimas y antibióticos aminoglucósidos. También debe tener vacío parcial y atmósfera enriquecida con anhídrido carbónico. Los frascos comerciales deben mantenerse en la oscuridad y a temperatura ambiente.

8. En los casos de no contarse con frascos o botellitas comerciales para hemocultivos, estas pueden prepararse en el laboratorio, en recipientes de vidrio esterilizables y con doble tapón, el interno perforable. Los caldos BHI (infusión de cerebro y corazón de buey) o tripticasa soya dan buenos resultados. Usualmente en hemocultivos para anaerobios no se efectúa, a menos que se encuentre con botellitas anaerobias comerciales; sin embargo, algunos anaerobios aerotolerantes eventualmente pueden crecer.

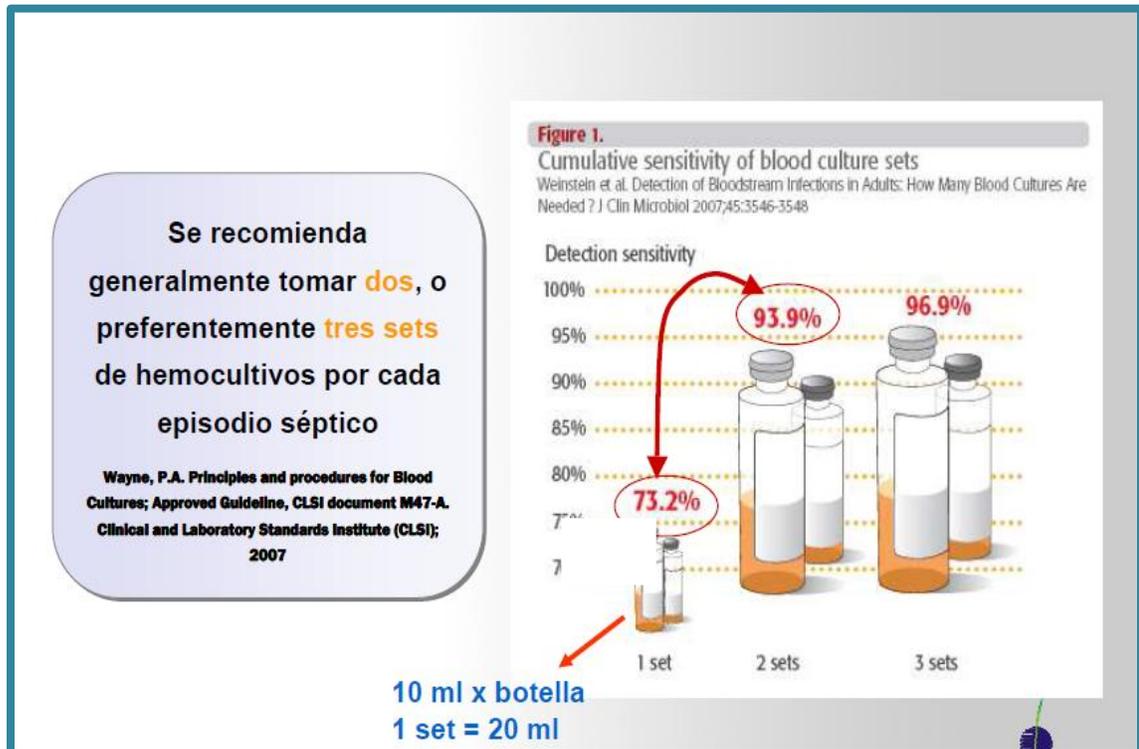
9. Agitar suavemente las botellas ya inoculadas, **e incubar a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ o meter en el equipo automatizado.**

(Torres, 129-130, 1966)

Anexo 5:

Hemocultivos seriados

Incrementa la probabilidad de descubrir un microorganismo patógeno y se reduce la probabilidad de que éste microorganismo no se trate de un contaminante proveniente de la piel del paciente.



Anexo 6:

Equipo automatizado de Bacteriología para la incubación de hemocultivos y los frascos comerciales utilizados.



Bact Alert: para incubación de hemocultivos.



Frascos para hemocultivos

Anexo 7:

Procedimiento de hemocultivos en caso de no ser automatizado

1. Incubar los hemocultivos a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ por seis a siete días, excepto en casos especiales en los cuales debe prolongarse la incubación, por ejemplo para el aislamiento de *Brucella spp.*
2. Con mucho cuidado para que el caldo no se agite, examinar diariamente los frascos contra la luz, para buscar algunos de los siguientes signos visibles que indican crecimiento bacteriano, los cuales orientan hacia el tipo de bacteria que está creciendo (En el área de bacteriología del Hospital Nacional de Maternidad se cuenta con equipo automatizado de incubación Bact Alert en cual evalúa estos parámetros de identificación, los cuales de no presentarse los reporta como hemocultivo negativo a los seis días de incubación)

(Torres, 129-130, 1966)

Anexo 8:

Observaciones en hemocultivos que orientan el diagnóstico Bacteriológico

SIGNO VISIBLE	POSIBLE BACTERIA
Turbidez	Bacilos Gram-negativos aerobios <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Bacteroides spp.</i>
Hemólisis	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Listeria spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>
Formación de gas	Bacilos Gram-negativos aerobios. Anaerobios
Colonias visibles como “motas de algodón”	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>
Formación de película	<i>Pseudomonas spp.</i> <i>Bacillus spp.</i> Levaduras.
Formación de coágulo gelatinoso	<i>Staphylococcus aureus</i>
Coloración verdosa	<i>Pseudomona aeruginosa.</i>

Anexo 9:

Procedimiento de procesamiento de hemocultivos positivos.

- 1.** En caso de observar cualquiera de estas características (los signos visibles, en caso de ser manual) o cuando el equipo de alarma de un hemocultivo positivo, agitar suavemente el frasco de hemocultivo, limpiar el tapón perforable con un algodón y alcohol, puncionar con jeringa y agujas estériles (puede ser de tuberculina) y aspirar una pequeña cantidad de caldo. Inocular una gota, luego estriar con asa sobre una caja de **agar sangre de carnero** y una caja de **agar chocolate** incubar ambas cajas a **36±1°C**. Es aconsejable sembrar tres gotitas del hemocultivo, pero solo estriar una. Si no se observa crecimiento en las gotas no rayadas y lo hay en las estrías, posiblemente se trate de contaminación. Simultáneamente, dejar secar dos gotas de caldo sobre un porta objetos; colorear con Gram.
- 2.** Observar cuidadosamente el frotis coloreado en Gram con lente de inmersión, pues la observación de las bacterias en base a su caracterización. Además algunas bacterias como *Haemophilus influenzae* no producen signos visibles en el caldo. Si se observan bacilos o cocobacilos gram-negativos inocular adicionalmente una caja de **agar MacConkey**; incubar aeróbicamente. Esto es especialmente importante para el aislamiento e identificación de *Salmonella typhi*.
- 3.** Si se observan cocos Gram positivo esféricos y con tendencia a agruparse en racimos, inocular una caja de **Agar manitol-sal**, para facilitar el aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*. Si se observa diplococos o cadenas cortas de cocos Gram- positivos ovalados, aplicar los discos de optoquín y bacitracina sobre la segunda estría del agar sangre de carnero, para acelerar la identificación presuntiva de *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.

Anexo 10:

Interpretación de los resultados

1. Con siete días de incubación a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ se recupera el 95 por ciento de las bacterias clínicamente significativas. Identificar los crecimientos bacterianos según el caso, con las técnicas descritas. Si se observa en agar MacConkey el crecimiento de colonias lactosa-negativo sospechosas de *Salmonella typhi*, aglutinar inmediatamente el crecimiento en agar sangre de carnero, con antisuero polivalente anti-salmonella, anti-salmonella grupo D, y anti-antígeno Vi. Si hay aglutinación franca, reportar inmediatamente la presencia de *Salmonella typhi*.

2. Algunas bacterias frecuentes en hemocultivos positivos son las siguientes:

- *Salmonella typhi*
- *Escherichia coli*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Haemophilus influenzae*

3. Algunas bacterias que frecuentemente crecen en hemocultivos, como contaminantes provenientes de la microbiota de la piel, son los bacilos gram-positivos:

- *Bacillus* sp. (esporulado)
- *Corynebacterium* sp. (no esporulado, difteroide)

(Torres, 129-130, 1966)

Anexo 11:

Equipo automatizado para identificación bacteriana y sensibilidad frente a antibióticos.



Anexo 12:

Marcha bacteriológica para hemocultivos.

Hemocultivos

Elementos

- ❖ Guantes
- ❖ Gasa o algodón estéril
- ❖ Alcohol al 70%
- ❖ Solución de yodo acuosa al 2%
- ❖ Jeringa estéril desechable
- ❖ Medios de cultivo comerciales (BD, Oxoid, Biomerieux) con una atmósfera de 5-7% de CO₂.

Preparación del paciente

- ❖ Elija el sitio para la venopunción.
- ❖ Limpie vigorosamente la piel con alcohol al 70% en forma circular en un diámetro aproximado de 5 cm.
- ❖ Aplique solución de yodo acuosa al 2% o yodopovidona, inicie desde el centro hacia afuera en forma circular; permita que el yodo permanezca sobre la piel por un minuto. Este tiempo es crítico en la desinfección.
- ❖ Retire el yodo de la piel del paciente con alcohol al 70%. Muchos pacientes son sensibles al yodo.

Procedimiento

- Inserte la aguja dentro de la vena y proceda a la extracción de la sangre.
- Realice la inoculación en el medio, a través del tapón de caucho de la botella, sin cambiar la aguja.
 - *Desinfecte previamente el tapón con la solución de yodo.*
- Inocule lentamente la sangre y mezcle por inversión unas 6 veces.
 - *Descarte la aguja y la jeringa en un recipiente de bioseguridad*
 - *Limpie nuevamente el tapón*
- Incube a 37°C hasta por 6 días.

Anexo 13:

Relación volumen sangre/medio de cultivo = 1/10 (mínima cantidad)

Nota. El número de muestras a tomar es variable y depende de la orden del médico.

- *Procesamiento hemocultivo manual*

Observar diariamente siguiendo el esquema que se presenta a continuación

Si el hemocultivo presenta:

- ❖ turbidez
- ❖ gas
- ❖ hemólisis

Resembrar inmediatamente en AS y ACH

	Tiempo en horas			Tiempo en días	
	18	48	72	4	5
<ul style="list-style-type: none"> • Gram • resiembra en ASC y Ach 		Observar	Observar	Observar	Informar

ASC = agar sangre de cordero, incubar en atmósfera de 5% CO₂

Ach = agar chocolate, incubar en atmósfera de 5% CO₂

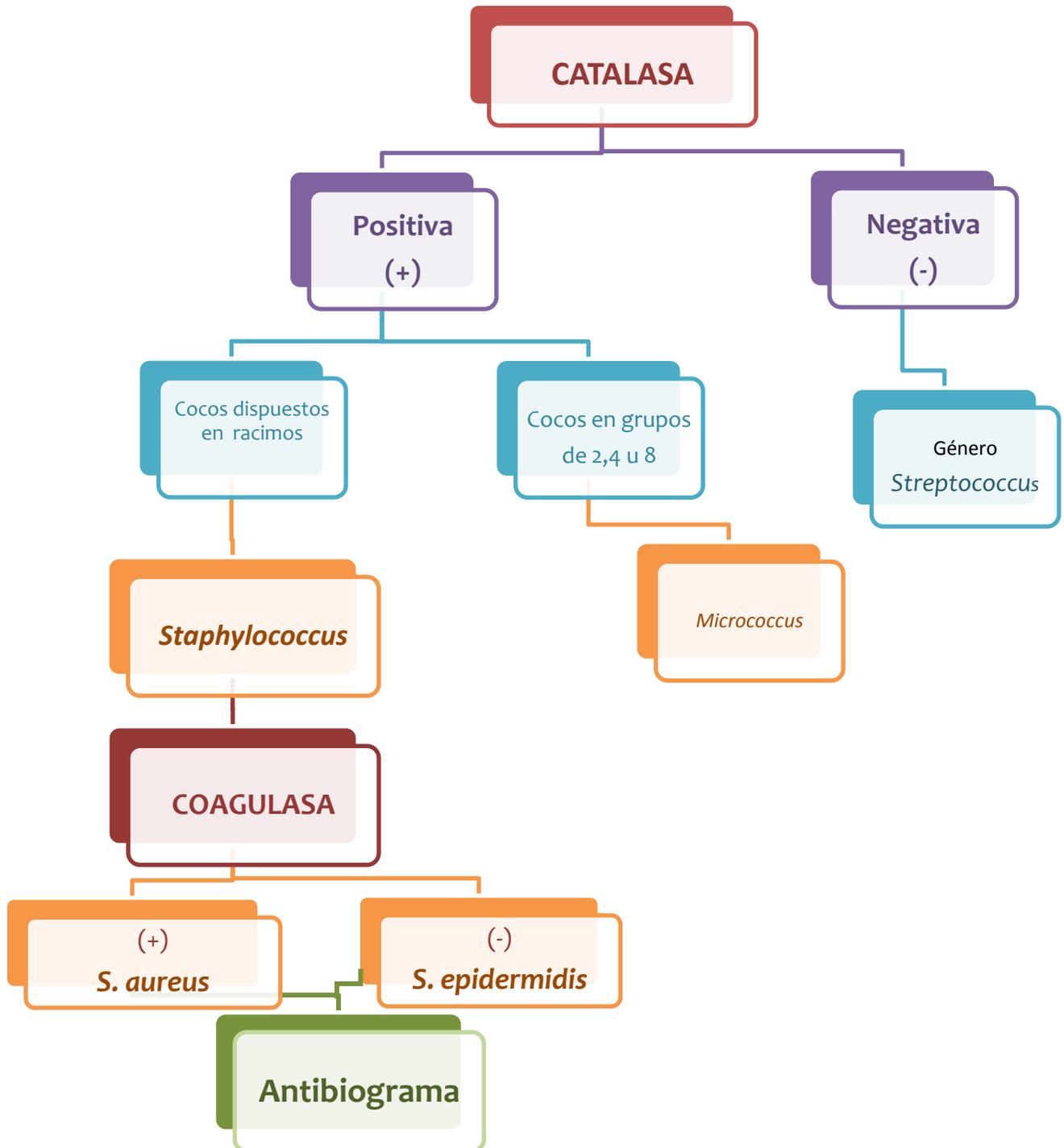
Procesamiento hemocultivo positivo

- ❖ Observar permanentemente el equipo.
- técnica manual como automatizado:
1. Realice la coloración de Gram (*informe inmediatamente al médico*)
 2. Identifíquelo con las técnicas tradicionales
 3. Realice las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Procesamiento En caso de obtener crecimiento de algún microorganismo tanto por la

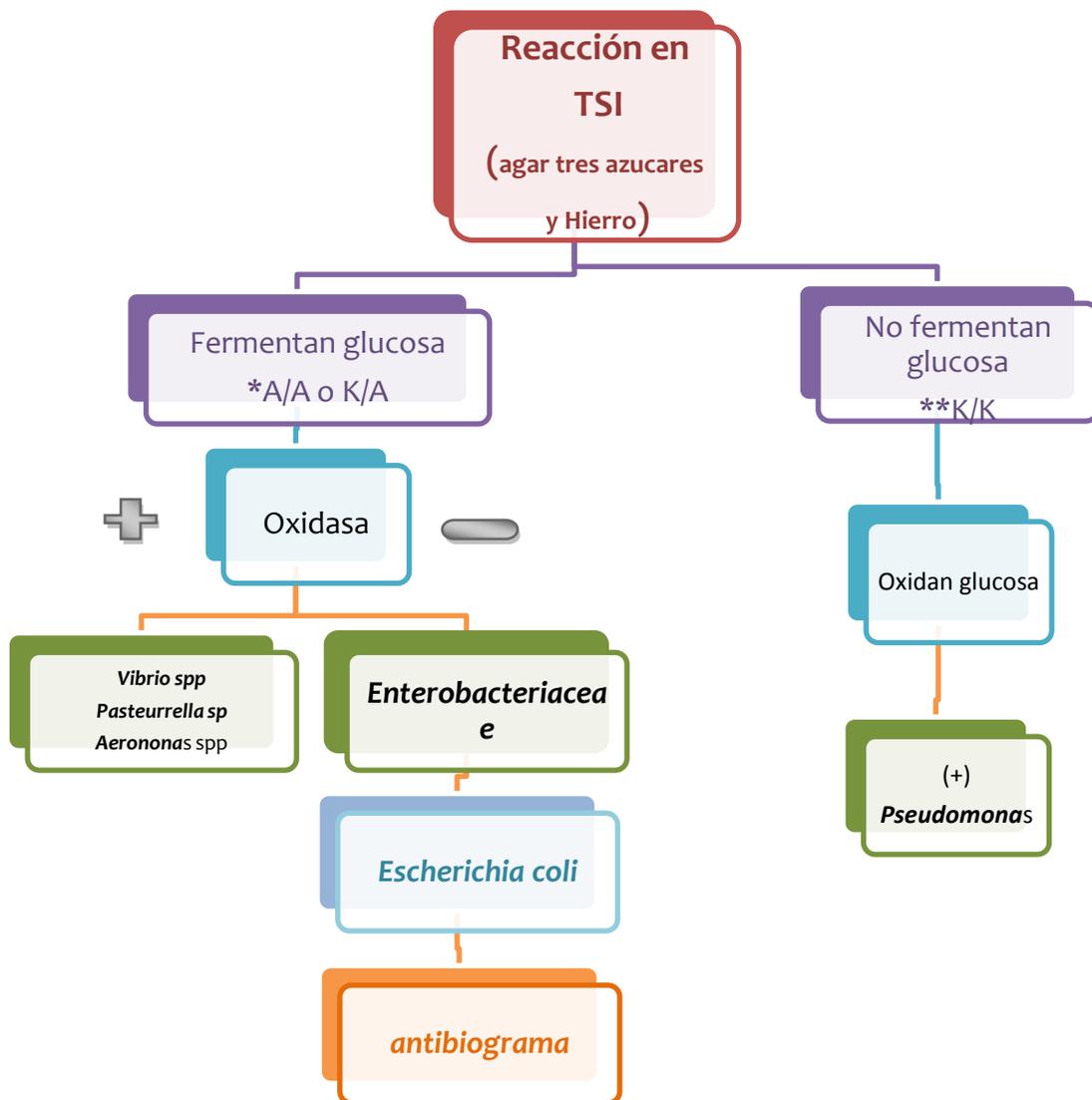
Anexo 14:

Esquema de identificación para cocos Gram positivos Aeróbicos.



Anexo 15:

Esquema de identificación para Bacilos Gram negativos



*A/A= ácido/ácido

**K/K= base/base

K/A= base/ácido

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BASUALDO, JUAN ANGEL; COTO, CELIA E.; DE TORRES, RAMÓN ALBERTO. 1996. Microbiología Biomédica. Buenos Aires, Argentina. Editorial Atlante Argentina S.R.L.
2. CHAMPOUX, JAMES J.2005. Microbiología Médica. Una Introducción a las Enfermedades Infecciosas .D.F. México. 4ª edición. Industria Editorial Mexicana.
3. CIFUENTES, YOLANDA.; RUIZ, ARIEL.; LEAL, AURA Y OTROS. Perfil microbiológico de aislamientos en unidades neonatales en un Hospital de tercer nivel de Bogotá, Colombia. Revista Salud Pública. Bogotá, Colombia. Julio. 2005.
<http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v7n2/v7n2a07.pdf>
4. FERRI, FRED F. 1999. Consultor Clínico. Diagnóstico y Tratamiento en Medicina Interna. Barcelona. España. MMII Editorial océano.
5. GONZÁLEZ, DENIZ, SABEL, MARÍA I.; DUANY OLIVER, Y OTROS. 2008 Microorganismos aislados de recién nacidos en salas de neonatología abiertas y cerradas. MEDISAN. Santiago. Cuba. Volumen12, número 4..

http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol12_4_08/san13408.htm

6. LEE, KIMBERLY G. 2011. Sepsis neonatal. A.DA.M. Carolina del Sur, E.E.U.U..

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/007303.htm>.
7. MARK H. BEERS, M.D., ROBERTO BERKOW, M.D.1999.. El Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento. 10ª edición española. Editorial Harcourt.
8. Missouri, Luis st. Diccionario de Medicina Océano MOSBY. USA MMVI Editorial océano
9. MURRAY, PATRICK . ; ROSENTHAL, KEN; PFALLER, MICHAEL;2008 Microbiología Médica, quinta edición, Brcelona España, Elsevier. Pag. 221-323
10. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD 1993. Métodos Básicos de Laboratorio en Microbiología Clínica. Ginebra,
11. PRESCOTT, LANSING M.; HARLEY, JOHN P.; KLEIN, DONALD A. 2004. Microbiología. 5ª edición. Madrid. España. Edigrafos.
12. STEPHEN ALLEN, 2006. Koneman Diagnóstico Microbiológico. Editorial Panamericana, S.A. 6ª edición

13. TECNO DIAGNOSTICA. .2012Hemocultivo Significado Clínico y Variables que Afectan su Rendimiento. San Salvador, El Salvador.
14. TORRES RUBIN, MANUEL FRANCISCO. 1996. Manual Práctico de Bacteriología. Editorial Serviprensa C. A.
15. VIVAS, J ROMERO; BOUZA, EMILIO; PLANES, ANA Y OTROS. 1993 Procedimientos de Microbiología Clínica. España.
16. Zemanta; Copyright © Ya Salud .com
<http://yasalud.com/estafilococo-epidermidis>
17. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiología/cap3.htm>.
18. http://wiki.fisiologia.me/images/2/23/Caracter%C3%ADsticas_f%C3%ADsicoqu%C3%ADmicas_del_plasma_sangu%C3%ADneo.pdf
19. <http://www.buenastareas.com/ensayos/Propiedades-Fisicas-De-La-Sangre/3537064.html>