



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

## ÁREA DE LA SALUD HUMANA

### **CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

#### TEMA:

“PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTE CAUSAL DE INFECCIONES EN HERIDAS DE PACIENTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, DURANTE EL PERÍODO FEBRERO- MAYO DEL 2010”

Tesis previa a la obtención del Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

#### AUTORA

Cumbicus Castillo Jenny Margarita

#### DIRECTORA

Dra. Paola Benítez

LOJA – ECUADOR

2009-2010

# TÍTULO

**“PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTE CAUSAL DE INFECCIONES EN HERIDAS DE PACIENTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA, DURANTE EL PERÍODO FEBRERO- MAYO DEL 2010”**

## **AUTORÍA**

Todos los contenidos utilizados en el presente trabajo, fueron basados en la recopilación de varios textos impresos, páginas publicadas en el internet e investigaciones realizadas y adaptados a mi tema de investigación. Por tal todos, los conceptos, opiniones, discusión de resultados obtenidos, conclusiones y recomendaciones vertidas en la presente tesis son de exclusiva responsabilidad de la autora.

.....

Jenny Cumbicus Castillo

## CERTIFICACIÓN

Dra.

Paola Benítez

**DIRECTORA DE TESIS**

### **CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de investigación titulado **“Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja, durante el período febrero a mayo del 2010”**, Fue dirigido, supervisado y revisado prolijamente en toda su extensión; la misma que cumple con todos los parámetros legales que exige la institución.

.....

Dra. Paola Benítez

**DIRECTORA DE TESIS**

## **AGRADECIMIENTO**

Dejo constancia de mis más sinceros agradecimientos a los catedráticos de la Universidad Nacional de Loja, del Área de la Salud Humana de la Carrera de Laboratorio clínico de la ciudad de Loja, por las enseñanzas que supieron impartir durante mi formación profesional.

Mi gratitud de manera especial a mi directora de tesis Dra. Paola Benítez, quien supo guiarme en el desarrollo y culminación de mi trabajo investigativo.

**AUTORA**

## DEDICATORIA

Dedico mi tesis a Dios a quién le debo todo lo bueno de mi vida, gracias señor por guiarme y darme fuerzas para continuar. A mis padres a quienes les debo todo lo que soy, cuyo apoyo y cariño han sido incondicionales.

A mi hermano por siempre apoyarme y motivarme a esforzarme y ser cada día mejor. A todos mis familiares y amigos/as que me han brindado ayuda y apoyo moral cuando lo he necesitado.

Jenny Cumbicus Castillo

# RESUMEN

## RESUMEN

Las bacterias Gram positivas tienen por fuera una pared celular gruesa constituida por peptidoglicanos, la que es más delgada en las Gram negativas. Estas diferencias en composición y estructura de la pared determinan el tipo de reacción positiva ó negativa obtenida en la coloración Gram<sup>9</sup>.

Los Estafilococos en el caso de una herida pueden entrar y causar una infección produciendo lesiones inflamatorias con contenido purulento, el cual puede progresar a estructuras más profundas<sup>12</sup>. Por ello la importancia de este trabajo en vista de que no se conoce la prevalencia de Estafilococos en heridas en nuestra ciudad. El presente trabajo de investigación titulado “Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, durante el período febrero a mayo del 2010” ; tiene como objeto conocer la prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas por medio de un estudio descriptivo transversal cuyo grupo de estudio estuvo conformado por el 100% de pacientes que acudieron al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja. Fueron procesadas y analizadas 81 muestras, a las cuales se les realizó tinción de Gram para diferenciar bacterias positivas y negativas; para luego ser cultivadas en Agar sangre, Mac-Conkey y finalmente se realizó pruebas bioquímicas tanto para Gram positivos como catalasa y coagulasa para diferenciar especies de Estafilococos y para Gram negativos: TSI, Citrato, Urea y SIM.

El resultado de mi estudio determinó que en 81 análisis se encontró 43 casos de Estafilococos, de ellos 93% corresponde a Estafilococo aureus, siendo la bacteria de mayor prevalencia en heridas.

**Palabras clave:** Estafilococos, infecciones, Bacterias Gram positivas.

## SUMMARY

Gram positive bacteria are outside a thick cell wall composed of peptidoglycan, which is thinner in the Gram negative. These differences in composition and structure of the wall determine the type of positive or negative reaction in the coloration obtained Gram (9).

Staphylococci in the case of a wound can enter and cause an infection by producing inflammatory lesions containing pus, which may progress to profundas<sup>12</sup> structures. Hence the importance of this work given that there is no known prevalence of staphylococci in wounds in our city. This paper titled "Prevalence of Staphylococcus as the causative agent of wound infections in patients attending the Regional Hospital Isidro Ayora Loja City during the period February to May 2010" aims to determine the prevalence of Staphylococcus causative agent of wound infections using a descriptive study which study group consisted of 100% of patients attending the Regional Hospital Isidro Ayora in the City of Loja. Were processed and analyzed 81 samples, which underwent Gram stain to differentiate positive and negative bacteria, and then be cultured in blood agar, Mac-Conkey and biochemical tests were finally performed for both Gram positive and catalase and coagulase to differentiate species of staphylococci and Gram negative: TSI, Citrate, Urea and SIM. The results of my study found that 81 analysis found 43 cases of Staphylococcus, 93% were Staphylococcus aureus, being the most prevalent bacteria in wounds.

**Keywords:** Staphylococci, infections, Gram positive bacteria.

## ÍNDICE

Título.....	II
Autoría.....	III
Certificación.....	IV
Agradecimiento.....	V
Dedicatoria.....	VI
Resumen.....	VIII
Summary.....	IX
Índice.....	X
I. Introducción.....	12
II. Revisión de Literatura.....	16
III. Materiales y métodos.....	25
IV. Resultados.....	28
V. Discusión.....	38
VI. Conclusiones.....	41
VII. Recomendaciones.....	43
Bibliografía.....	45
ANEXOS.....	48

# I. INTRODUCCIÓN

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones provocadas por invasión bacteriana en heridas son un problema relevante de salud pública de gran trascendencia económica y social. Siendo de importancia clínica y epidemiológica debido a que presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, por ello el tratamiento adecuado y oportuno, tendrá un impacto importante en los índices de salud.

Las bacterias se pueden clasificar en varios tipos en función de varios criterios: por su forma, por composición de su pared celular, empleando una técnica llamada tinción de Gram, que nos permite identificar las bacterias como Gram positivas y Gram negativas<sup>12</sup>. En función de que necesiten oxígeno o no, según sus capacidades metabólicas o fermentadoras<sup>14</sup>.

Los Estafilococos son cocos Gram positivos, inmóviles, que se presentan aislados, en pares, en cadenas cortas o racimos irregulares; miden entre 0.8- 1 micra de diámetro; unas pocas cepas producen una cápsula que incrementa la virulencia del microorganismo. Son anaerobios facultativos pero su desarrollo es más abundante en condiciones aerobias. La temperatura óptima es de 30-37°C. En placas de Agar sangre las colonias crecen con un diámetro de 1- 4 mm, son lisas, opacas, redondas, circulares convexas, bajas y de aspecto pastoso<sup>5</sup>.

El género Estafilococos comprende microorganismos que están presentes en muchas superficies de la piel sin ocasionar ningún daño, especialmente alrededor de la nariz, la boca, los genitales y el ano. Pero cuando la piel es punzada o en el caso de una herida, producen lesiones inflamatorias que pueden progresar a estructuras más profundas, y al llegar al torrente sanguíneo diseminarse y producir el mismo tipo de lesión en cualquier lugar del organismo. La especie que se asocia con más frecuencia a las enfermedades en humanos es el *Estafilococo aureus*.

Por los antecedentes expuestos he creído importante investigar la “Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, durante el período febrero a mayo del 2010” para lograr el desarrollo de la

investigación se ha tomado en cuenta los objetivos aquí planteados, que son: utilizar métodos y técnicas analíticas como Tinción de Gram, cultivos y pruebas bioquímicas para determinar la presencia de Estafilococos y determinar la prevalencia de infecciones en heridas ocasionadas por esta bacteria en pacientes que acuden al Laboratorio Clínico del Hospital Regional Isidro Ayora.

La metodología propuesta implica un estudio descriptivo de corte transversal que acogió al 100% de pacientes que acudieron al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja. Excluyendo a los pacientes que no accedieron a realizarse los exámenes y pacientes que no presentaron petición médica. Las muestras se analizaron mediante la aplicación de métodos y técnicas analíticas afines para la realización de los exámenes correspondientes como son: tinción de Gram que nos permite diferenciar bacterias Gram positivas de bacterias Gram negativas, cultivos en Agar sangre, Mac-Conkey y pruebas bioquímicas como catalasa y coagulasa para diferenciar especies de Estafilococos y para bacterias Gram negativas TSI, Citrato, Urea y SIM. El análisis estadístico se realizó tabulando los resultados obtenidos, numéricamente y en porcentajes con los cuales se construyó tablas de frecuencia simple.

Como aporte a este trabajo existe evidencia de que en nuestro país en la ciudad de Latacunga se realizó un estudio prospectivo y descriptivo en el Hospital general de Latacunga entre enero a diciembre del 2008 por Halo Zebala en el cual se diagnosticaron 180 infecciones en 199 pacientes causados por Estafilococos aureus. El 38% de las mismas fueron de la comunidad, de las cuales se detectaron 32 infecciones causadas por cepas de Estafilococos aureus resistentes adquiridos en la comunidad<sup>20</sup> (42%).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, "Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja; la prevalencia fue de 53% de infecciones causadas por estafilococos, con el 93% correspondiente a *Estafilococo aureus*. Siendo así la bacteria de mayor prevalencia. Aportando a este trabajo existe evidencia de que en esta misma institución de salud, en años anteriores 2007 a 2009 se encontraron las siguientes prevalencias de Estafilococos causante de infecciones en heridas:

en el 2007 la prevalencia fue del 63%, en el 2008 la prevalencia fue del 65% y en el 2009 la prevalencia fue 60%.

# II. REVISIÓN DE LITERATURA

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### **Bacterias Gram positivas**

Se denominan bacterias Gram positivas a aquellas bacterias que se tiñen de color violeta por la tinción de Gram: de aquí el nombre de "Gram-positivas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular. En las bacterias Gram-positivas comprende la membrana citoplasmática y una pared celular compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano, que rodea a la anterior. La pared celular se une a la membrana citoplasmática mediante moléculas de ácido lipoteicoico. La capa de peptidoglicano confiere una gran resistencia a estas bacterias y es la responsable de retener el tinte durante la tinción de Gram. A diferencia de las Gram-negativas, las Gram-positivas no presentan una segunda membrana lipídica externa a la pared celular y esta pared es mucho más gruesa<sup>17</sup>.

### **Estafilococos: Características generales**

Los Estafilococos son células esféricas Gram positivas, dispuestas en racimos irregulares, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta al amarillo intenso.

El género Estafilococo comprende microorganismos que están presentes en muchas superficies de la piel sin ocasionar ningún daño, especialmente alrededor de la nariz, la boca, los genitales y el ano. Pero cuando la piel es punzada o en el caso de una herida, las bacterias Estafilococos pueden entrar en la herida y causar una infección. Los Estafilococos patógenos causan hemólisis, coagulación del plasma y producen varias enzimas y toxinas extracelulares<sup>5</sup>. La especie que se asocia con más frecuencia a las enfermedades en humanos es el Estafilococos aureus.

---

<sup>17</sup> Cortez, José, "Monografías de estafilococos", ([http:// www.monografias.com/ trabajos16/ estafilococos/estafilococosis. Shtml](http://www.monografias.com/trabajos16/estafilococos/estafilococosis.Shtml)) 2009.

## Morfología

Los Estafilococos son Gram positivos, inmóviles, que se presentan aislados, en pares, en cadenas cortas o racimos irregulares; miden entre 0.8- 1 micra de diámetro; unas pocas cepas producen una cápsula que incrementa la virulencia del microorganismo. Los cocos jóvenes son fuertemente Gram positivos; al envejecer algunas células se degeneran a Gram negativas<sup>5</sup>.

## Clasificación

El Estafilococo es un género de importancia médica. Se han reconocido tres especies importantes: *Estafilococo aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*.

El *Estafilococo aureus* es un microorganismo Gram positivo, es un coco inmóvil, de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, que se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Los racimos irregulares son característicos de extendidos tomados de cultivos que se desarrollan en medios sólidos, mientras que en otros cultivos son frecuentes las formas de diplococos y en cadenas cortas. Poseen una enzima, la coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género; ésta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina.

Esta bacteria interviene en la mayor parte de los procesos supurados de heridas en el hombre. Puede localizarse en cualquiera de los tejidos corporales, por lo que es el germen que con más frecuencia produce piemia. Es uno de los agentes etiológicos de osteomielitis, sinusitis, forúnculos, mastoiditis, endocarditis y queratitis ulcerativa<sup>16</sup>. El proceso patológico puede deberse a la invasión de los tejidos, o puede reflejar una lesión debida a diversas toxinas y enzimas elaboradas por estos microorganismos. La transmisión de *Estafilococo aureus* se produce generalmente por contacto directo o al diseminarse partículas densas hasta una distancia de 1.80 metros o menor. Mientras que los *Estafilococos epidermidis* son cocos Gram positivo,

---

<sup>16</sup>Zangronis,Luis,"InfeccionesEstafilocócicas",(<http://kidshealt.org/teen/enespanol/infecciones/staph-esp.htm>)2009.

catalasa positiva, coagulasa negativa, su crecimiento no presenta hemólisis, no fermenta manitol, no es pigmentado, es la causa menos común en infecciones oportunistas, son mediadores de infecciones nosocomiales y se presenta frecuentemente en la piel de humanos y en membranas mucosas<sup>11</sup>. El *Estafilococo saprophyticus* es un coco Gram positivo, coagulasa negativo, anaerobio facultativo, no formador de cápsula, no formador de espora e inmóvil. Posee la enzima ureasa y es capaz de adherirse a las células epiteliales del tracto urogenital. Es causa frecuente de infecciones del tracto urinario<sup>7</sup>.

### **Estructura antigénica**

En la estructura de la pared celular, los Estafilococos contienen proteínas antigénicas y polisacáridos lo cual permite a las cepas agruparse limitadamente. Los ácidos teicoicos enlazados a los peptidoglicanos de la pared celular pueden ser antígenos. La proteína de superficie puede interferir con la fagocitosis. El peptidoglucano es un polímero polisacárido formado por la unión de subunidades, suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular. Es importante en la patogenia de la infección, induce la producción de interleucina-1, y de anticuerpos opsonicos en los monocitos.

Los ácidos teicoicos son polímeros de glicerol o fosfato ribitol, están unidos al peptidoglucano y pueden ser antigénicos.

La proteína A es un componente de la pared celular de muchas cepas de *S. aureus* que se une a la porción Fc de las moléculas IgG.<sup>5</sup>

### **Toxinas y enzimas**

Los Estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y propagarse de modo extenso en los tejidos y mediante la producción de muchas sustancias como son enzimas y toxinas:

**Adhesina:** Es una sustancia proteica que favorece al anclaje de las bacterias a la membrana citoplasmática de las células de los tejidos

**Coagulasa:** Esta enzima se correlaciona con el 97% de las cepas de *S. aureus* y se considera la prueba tipo para identificar esta especie; actúa transformando

el fibrinógeno en fibrina formando una capa sobre la bacteria que la protege de la fagocitosis.

**Lipasas:** Son varias enzimas que actúan sobre diferentes substratos (aceites, grasas, ceras, etc.) que le permiten colonizar áreas de la piel con altas concentraciones de estas enzimas.

**Hialuronidasa:** Esta enzima actúa sobre el ácido hialurónico, presente en el pegamento de las células de los tejidos, favoreciendo así la difusión de la bacteria en los tejidos.

**Estafiloquinasa:** Es una fibrinolisisina que activa el plasminógeno, lo transforma en plasmina y este actúa sobre la fibrina rompiendo enlaces peptídicos que lisan la fibrina.

**Nucleasa:** Es una enzima que tiene propiedades endonucleotídicas y exonucleotídicas, puede actuar sobre el ADN y el ARN produciendo licuación del material, es un factor de difusión.

**Toxina alfa o hemolisina alfa:** Es una toxina con acción hemolítica sobre eritrocitos de diferentes especies, lesiona las plaquetas y es dermonecrotica.

**Toxina beta o esfingomilinasas:** Actúa sobre la esfingomielina de la membrana de los eritrocitos produciendo hemólisis.

**Toxina delta o hemolisina delta:** Es hemolítica lesiona linfocitos, plaquetas y neutrófilos.

**Toxina gamma o hemolisina gamma:** Produce lisis de eritrocitos de diferentes especies.

**Leucocidina:** Produce lisis de polimorfonucleares y de macrófagos, pero no de otras poblaciones de leucocitos ni eritrocitos.

**Enterotoxinas:** Se han identificado 7 diferentes toxinas que se denominan A, B, C1, C2, D, E y F, producen intoxicación por la ingestión de alimentos contaminados por *S. aureus* que la producen.

**Exfoliatina:** Es una toxina que actúa específicamente a nivel de la piel produciendo separación del estrato granuloso de la epidermis, desprendiéndose la piel en colgajos.

**Exotoxinas pirógenas:** Se han identificado tres diferentes sustancias pirógenas que se denominan A, B y C las tres producen fiebre de diferentes intensidades.

**Dermonecrotoxina:** Esta toxina produce necrosis cutánea<sup>6</sup>.

### **Patogenia**

Los Estafilococos, en particular el *S. epidermidis*, son miembros de la flora normal de la piel humana y de los aparatos respiratorio y gastrointestinal. De de 40 a 50% de los humanos albergan *S.aureus* en la nariz.

Excepto en el caso de neumonías estafilocócicas, estos microorganismos penetran en el cuerpo a través de la piel integra o cuando se rompe esta barrera por un traumatismo. Al parecer la vía de infección en la piel integra serían los folículos pilosos o conductos de glándulas sudoríparas. Las infecciones estafilocócicas suelen asumir forma localizada, con un foco de infección purulenta parcial o totalmente aislado de los tejidos circundantes. Este puede limitarse o diseminarse por vía sanguínea para causar focos secundarios de infección en cualquier tejido u órgano donde puedan alojarse las bacterias. En ocasiones, la infección puede asumir una forma bacteriemia fulminante<sup>10</sup>.

**En el hombre son causantes de:**

### **Infecciones cutáneas**

Las infecciones más comunes son las que afectan la piel y las estructuras anexas: furúnculos, ántrax, foliculitis, piodermatitis, impétigo ampollar y síndrome de la piel escalada causada por una toxina denominada exfoliatina.

### **Infecciones profundas**

Se pueden desarrollar infecciones más extensas y profundas a partir de infecciones cutáneas. Los pacientes que han recibido agentes quimioterápicos,

especialmente por vía oral, pueden desarrollar una enteritis estafilocócica, ya que ellos eliminan la flora bacteriana intestinal normal proporcionando al Estafilococo la posibilidad de multiplicarse en forma irrestricta.

En otros aparatos y sistemas pueden producir:

Sinusitis, otitis, faringitis, neumonitis, abscesos pulmonares o pleurales.

En el aparato digestivo: Enterocolitis, abscesos del hígado, peritonitis.

En el sistema nervioso central: Meningoencefalitis.

En el músculo esquelético: Osteomielitis, artritis miosistis<sup>4</sup>

### **Diagnóstico**

El diagnóstico de la infección estafilocócica se basa en el aislamiento del microorganismo de un sitio habitualmente no colonizado, tal como cavidades abscesadas, sangre, etc. La identificación se logra mediante tinción Gram y pruebas de catalasa, coagulasa o mediante el conjunto de factores de reactividad. Es importante la prueba de susceptibilidad por ser común la resistencia a antibióticos betalactámicos<sup>2</sup>.

### **Pruebas de Diagnóstico**

#### **a. Muestras**

Frotis de muestras de pus, sangre, material aspirado de tráquea o LCR, según el proceso.

#### **b. Frotis**

En los frotis teñidos de pus se observan los Estafilococos. No es posible diferenciar especies.

#### **c. Cultivo**

El Estafilococo es un anaerobio facultativo pero su desarrollo es más abundante en condiciones aerobias. La temperatura óptima es de 30-37°C. El pH óptimo es de 7-7.5. Los Estafilococos producen ácido a partir del glicerol en presencia de energía y son susceptibles a la lisis por

efecto de la lisostafina<sup>1</sup>. En placas de Agar sangre las colonias crecen con un diámetro de 1- 4 mm, son lisas, opacas, redondas, circulares convexas, bajas y de aspecto pastoso también presentan hemólisis y producción de pigmento. El *S.aureus* forma colonias de color amarillo dorado intenso, mientras que el *S. epidermidis* forma colonias de color gris o blanco<sup>5</sup>.

#### **d. Prueba de la catalasa**

Se utiliza para comprobar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las aerobias facultativas que contienen citocromo; es usada para diferenciar entre los géneros Estafilococos los cuales presentan una reacción positiva (producción de burbujas en el momento en que entra en contacto la colonia con el peróxido de hidrógeno)<sup>3</sup>

#### **e. Prueba de la coagulasa**

La coagulasa es una enzima que estimula la conversión del fibrinógeno en fibrina. Mediante el enlace de la enzima a la protrombina se forma un complejo enzimáticamente activo que inicia la polimerización a la fibrina; cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con plasma en tubo de ensayo y se incuba a 37°C, se provocará la formación de un coagulo visible. Esta prueba se utiliza para diferenciar entre Estafilococo aureus (coagulasa positivo) de otros Estafilococos que presentan reacción negativa<sup>15</sup>.

#### **f. Fermentación del manitol**

La mayor parte de las cepas de Estafilococos aureus pueden fermentar manitol y formar ácido, lo cual no sucede con otros Estafilococos coagulasa negativos.

#### **g. Prueba de la desoxirribonucleasa**

---

<sup>13</sup> Molinos, Sonia, "Condiciones anaerobias del Staphylococcus", ([http://www.ispch.cl/labam/serlab/aerobios Staphylococcus.html](http://www.ispch.cl/labam/serlab/aerobios%20Staphylococcus.html)) 2009.

Muchas cepas de *Estafilococo aureus* producen desoxirribonucleasa; hay dos formas para realizar la prueba, la más usada se basa en el agregado de azul de toluidina o a la base de agar nutriente. A medida que el microorganismo crece y produce ADNasa, el agar que rodea las colonias de *Estafilococos aureus* cambia de color azul a rosa, lo que indica la hidrólisis del ADN<sup>13</sup>.

---

<sup>15</sup>Wolk, William, "Estafilococos", (<http://microbiosdetrigoso.blogspot.com/2009/02/estafilococo.html>) 2007.

# III. MATERIALES Y MÉTODOS

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **TIPO DE ESTUDIO**

El presente trabajo investigativo es un estudio de tipo descriptivo y de corte transversal que se realizó en muestras de de heridas de pacientes acudieron al Laboratorio Clínico del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja.

#### **ÁREA DE ESTUDIO**

Este trabajo se realizó en el Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja, durante el período febrero- mayo del 2010.

#### **UNIVERSO**

Estuvo conformado por todos los pacientes con heridas que acudieron al Laboratorio Clínico durante el período mencionado.

#### **MUESTRA**

Se analizó 81 muestras de Pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico.

#### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Se incluyó a todos los pacientes que asistieron a realizarse los exámenes de heridas.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Se excluyeron aquellos que:

- a. No accedieron a realizarse el examen,
- b. Pacientes que no presentaron petición médica.

## **TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS**

- a. Hoja de Recolección de datos del paciente. (Anexo 1).
- b. Hoja de resultados obtenidos. (Anexo 2)

## **PROCEDIMIENTOS**

- a. Protocolo para diferenciar cocos Gram positivos de cocos Gram negativos mediante tinción de Gram en las muestras de heridas. (Anexo 3)
- b. Cultivos de agar sangre, agar Mac-Conkey. (Anexo 4)
- c. Pruebas Bioquímicas: catalasa, coagulasa, TSI, urea, SIM y citrato para diferenciación de especies. (Anexo 5)

## **ANÁLISIS DE DATOS**

Se creó una base de datos en Excel, los resultados obtenidos se tabularon en forma numérica y en porcentual con los cuales se construyó tablas de frecuencia simple y se analizaron e interpretaron los resultados obtenidos con los cuales se planteó las conclusiones y recomendaciones de esta investigación.

# IV. RESULTADOS

## IV. RESULTADOS

**TABLA Nro. 1**

**DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA DE ACUERDO AL ÁREA DE HOSPITALIZACIÓN.**

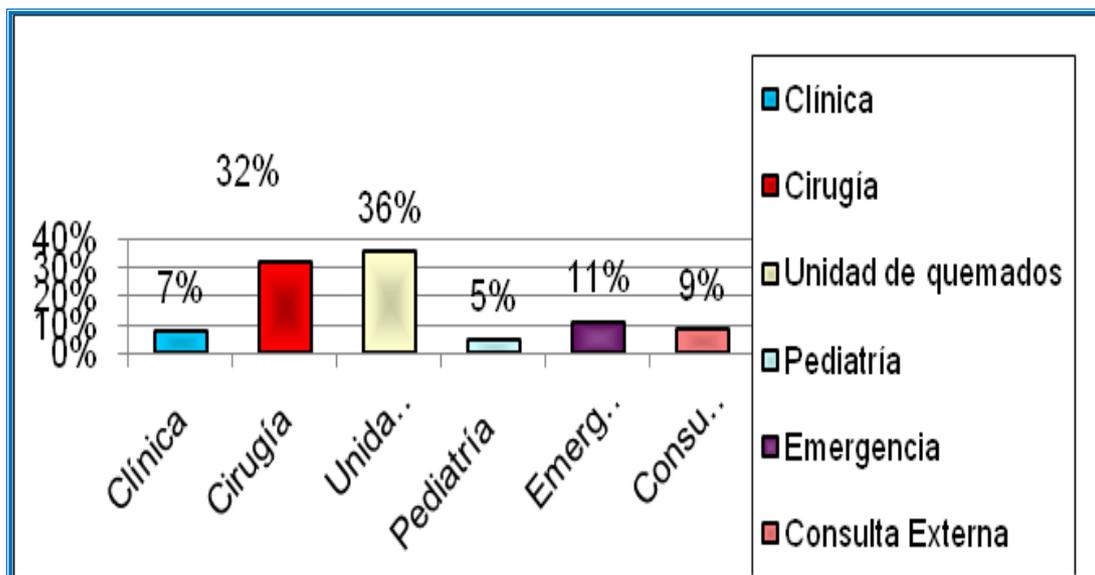
<b>Servicio</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Clínica</b>	6	7%
<b>Cirugía</b>	26	32%
<b>Unidad de quemados</b>	29	36%
<b>Pediatría</b>	4	5%
<b>Emergencia</b>	9	11%
<b>Consulta Externa</b>	7	9%
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicos Castillo.

## GRÁFICO Nro. 1

### DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA DE ACUERDO AL ÁREA DE HOSPITALIZACIÓN



**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus castillo.

**INTERPRETACIÓN:** En los 81 pacientes, que se les realizó el examen, 29 pacientes se encontraron hospitalizados en el servicio de Unidad de quemados (36%), 26 se encontraron hospitalizados en el servicio de cirugía (32%), 9 acudieron al servicio de emergencia (11%), 7 acudieron al servicio de consulta externa (9%), 6 en clínica (7%); y 4 pacientes de pediatría, que corresponde al (5%)

**TABLA Nro. 2**

**AGENTES CAUSALES DE INFECCIÓN EN LAS HERIDAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.**

Variable	Frecuencia	%
<b>Estafilococo aureus</b>	40	49%
<b>Estafilococo epidermidis</b>	3	4%
<b>Enterobacter aerogenes</b>	14	17%
<b>Proteus spp</b>	10	12%
<b>Escherichia Coli</b>	7	9%
<b>Klebsiella spp</b>	5	6%
<b>Pseudomona aeruginosa</b>	2	2%
<b>TOTAL</b>	<b>81</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

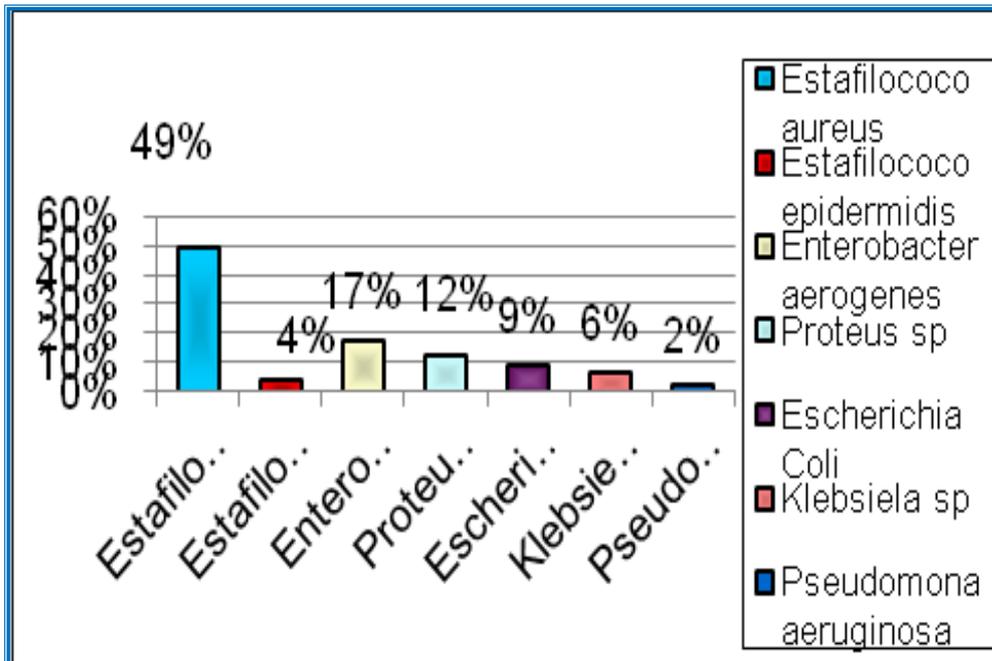
**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES.**

Especies	Catalasa	Coagulasa	TSI				Urea	SIM			Citrato
Estafilococo aureus	+	+									
Estafilococo epidermidis	+	-									
Enterobacter aerogenes			Inclinado A	Fondo AG	Gas ++	SH2 -	T	Indol +=	Movilidad -	SH2 -	+
Proteus spp			Inclinado A	Fondo AG	Gas +	SH2 -	+	Indol +	Movilidad +	SH2 +	+
Escherichia coli			Inclinado A	Fondo AG	Gas ++	SH2 -	-	Indol +	Movilidad +	SH2 -	-
Klebsiella spp			Inclinado A o K	Fondo AG	Gas ++	SH2 -	-	Indol +=	Movilidad -	SH2 -	-
Pseudomona aeruginosa			Inclinado K	Fondo K	Gas -	SH2 -	-	Indol -	Movilidad +	SH2 -	+

## GRÁFICO Nro.2

### AGENTES CAUSALES DE INFECCIÓN EN LAS HERIDAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.



**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**INTERPRETACIÓN:** De los 81 pacientes que se realizaron el examen; se encontró 40 casos de *Estafilococos aureus* (49%), 14 casos son *Enterobacter aerogenes* (17%), 10 casos son *Proteus spp* (12%), 7 casos son *Escherichia coli* (9%), 5 casos son *Klebsiella spp* (6%), 3 casos son *Estafilococos epidermidis* (4%) y 2 casos son *Pseudomona aeruginosa* (2%).

**TABLA Nro. 3**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTES CAUSALES DE INFECCIÓN EN LAS HERIDAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.**

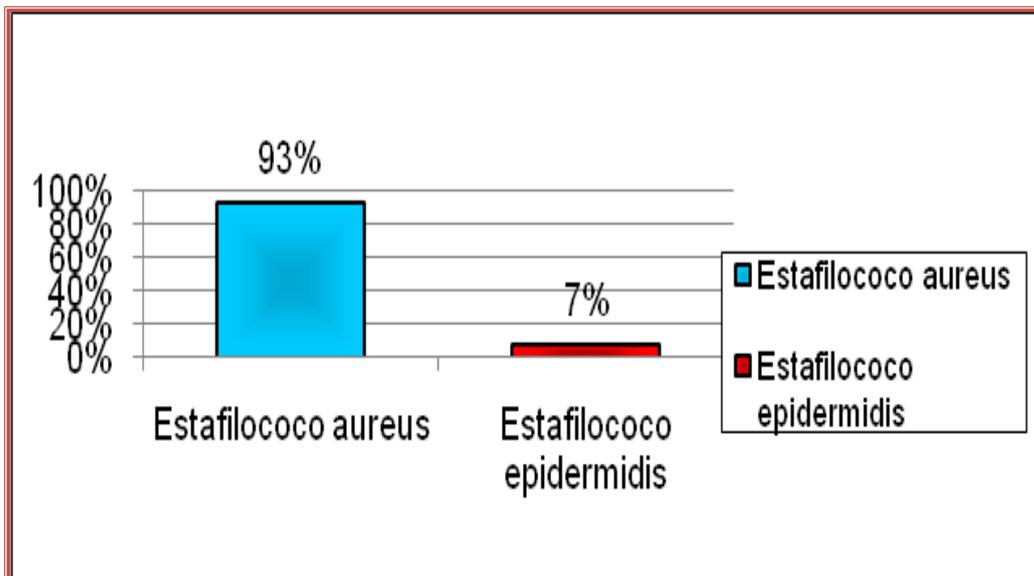
VARIABLE	Frecuencia	%
Estafilococo aureus	40	93%
Estafilococo epidermidis	3	7,00%

**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**GRÁFICO Nro.3**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTES CAUSALES DE INFECCIÓN EN LAS HERIDAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.**



**Fuente:** Libro de registro del Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**INTERPRETACIÓN:** De los 43 casos de Estafilococos, encontramos el 93% correspondiente a 40 casos de *estafilococos aureus*, y el 7% que corresponde a 3 casos de *estafilococos epidermidis*. Por lo tanto el Estafilococo aureus es la bacteria de mayor prevalencia.

**TABLA Nro. 4**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTES CAUSALES DE INFECCIONES EN HERIDAS EN LOS AÑOS 2007-2010.**

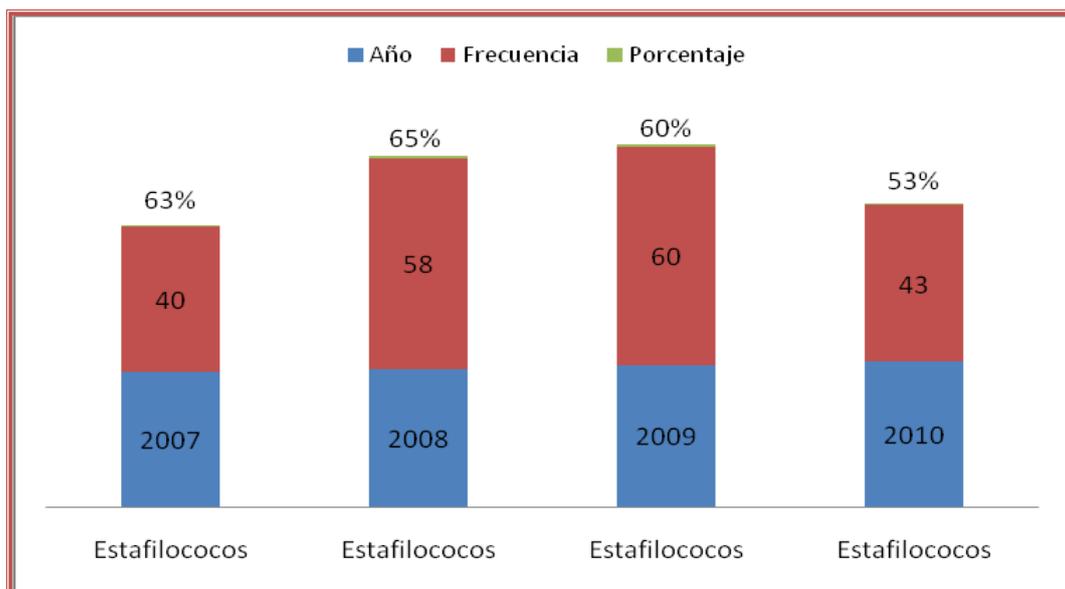
Variable	Año	Frecuencia	Porcentaje
Estafilococos	2007	40	63%
Estafilococos	2008	58	65%
Estafilococos	2009	60	60%
Estafilococos	2010	43	53%

**Fuente:** Registro de estadística del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**GRÁFICO Nro.4**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS COMO AGENTES CAUSALES DE INFECCIONES EN HERIDAS EN LOS AÑOS 2007-2010.**



**Fuente:** Registro de estadística del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**INTERPRETACIÓN:** Según los datos obtenidos en estadística de los años 2007 a 2009, se encontró los siguientes resultados: Para el año 2007 se atendieron 63 pacientes con heridas en el Hospital Isidro Ayora, de los cuales 40 casos presentaron infección en heridas por Estafilococos, con una prevalencia de 63%; mientras que en el 2008, se atendieron 88 pacientes, de los cuales 58 casos presentaron infección en heridas por Estafilococos, con una prevalencia de 65%. En el 2009 se atendieron 100 pacientes, de los cuales 60 casos presentaron infección en heridas por Estafilococos, con una prevalencia de 60%. Mientras que en el presente trabajo de investigación durante el período febrero a mayo del 2010 se atendieron 81 pacientes con heridas, de los cuales 43 casos presentaron infección en heridas por Estafilococos, con una prevalencia de 53%.

**TABLA Nro. 5**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS POR ESPECIES COMO AGENTE CAUSAL DE INFECCIONES EN HERIDAS EN LOS AÑOS 2007 a 2010.**

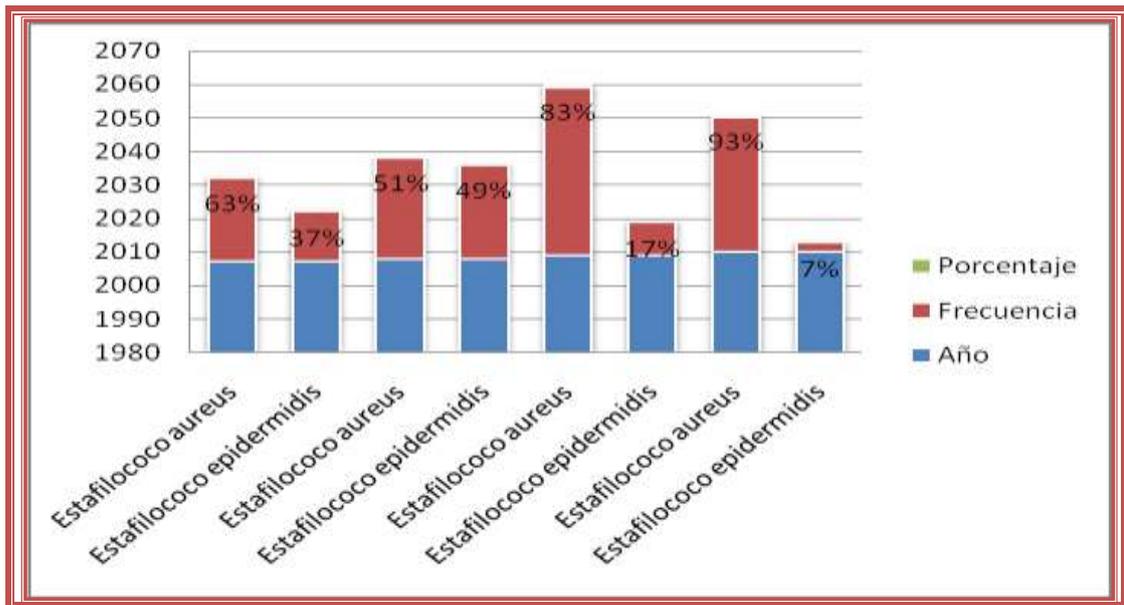
Variable	Año	Frecuencia	Porcentaje
Estafilococo aureus	2007	25	63%
Estafilococo epidermidis	2007	15	37%
Estafilococo aureus	2008	30	51%
Estafilococo epidermidis	2008	28	49%
Estafilococo aureus	2009	50	83%
Estafilococo epidermidis	2009	10	17%
Estafilococo aureus	2010	40	93%
Estafilococo epidermidis	2010	3	7%

**Fuente:** Registro de estadística del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**GRÁFICO Nro.5**

**PREVALENCIA DE ESTAFILOCOCOS POR ESPECIES COMO AGENTE CAUSAL DE INFECCIONES EN HERIDAS EN LOS AÑOS 2007 a 2010.**



**Fuente:** Registro de estadística del Hospital Isidro Ayora.

**Autora:** Jenny Cumbicus Castillo.

**INTERPRETACIÓN:** De los 40 casos de Estafilococos en el año **2007**, encontramos el 63% correspondiente a 25 casos de *Estafilococos aureus*, y el 37% que corresponde a 15 casos de *Estafilococos epidermidis*. En el **2008** se reportaron 58 casos de Estafilococos, encontrando el 51% correspondiente a 30 casos de *Estafilococos aureus*, y el 49% que corresponde a 28 casos de *estafilococos epidermidis*. Mientras que en el **2009** de los 60 casos de Estafilococos, encontramos el 83% que corresponde a 50 casos de *Estafilococos aureus*, y el 17% correspondiente a 10 casos de *Estafilococos epidermidis*. En el **2010** se encontró 43 casos de Estafilococos, de los cuales el 93% corresponde a 40 casos de *Estafilococos aureus* y el 7% corresponde a 3 casos de *Estafilococos epidermidis*. Por lo tanto el *Estafilococo aureus* es la bacteria de mayor prevalencia.

# V. DISCUSIÓN

## V. DISCUSIÓN

Las infecciones de heridas provocadas por gérmenes bacterianos, en nuestro medio constituyen una de las causas de morbi-mortalidad; debido a que existe poco conocimiento por parte de la población de las infecciones que pueden causar estos microorganismos en heridas. Estas enfermedades infecciosas son un problema relevante de salud pública.

Como evidencia ante este problema se encontró estudios realizados por la Dra. Claudia Alburez en el 2008 en el Hospital antiguo de Guatemala en donde se encontraron a nivel subclínico, el género *Estafilococo*, con el 80%, fue el más aislado *S. aureus*: 70%; *Estafilococos* coagulasa negativos (10%), seguido de las diferentes especies incluidas en *Streptococcaceae* (16%), y del género *Corynebacterium* spp (4%)<sup>19</sup>.

Otro estudio realizado en la ciudad de Chicago por Luis García en el año 2009, en el área Metropolitana se reportó una prevalencia creciente de infecciones por *Estafilococos*; el porcentaje de *S. aureus* identificado a partir de pacientes ingresados estuvo cercano al 22.5 %, en 50 cepas de *Estafilococos*<sup>19</sup>.

A nivel nacional en la ciudad de Latacunga se realizó un estudio prospectivo y descriptivo en el Hospital general de Latacunga entre enero a diciembre del 2008 por Halo Zebala en el cual se diagnosticaron 180 infecciones en 199 pacientes causados por *Estafilococos aureus*. El 38% de las mismas fueron de la comunidad, de las cuales se detectaron 32 infecciones causadas por cepas de *Estafilococos aureus* resistentes adquiridos en la comunidad<sup>20</sup> (42%).

Mientras que a nivel local se encontraron datos estadísticos en el Hospital Isidro Ayora en los períodos 2007, 2008 y 2009. La prevalencia de infecciones causadas por *estafilococos* en heridas para el año 2007 es del 63%; siendo el *S. aureus* la especie de mayor prevalencia con el 63%; en el 2008 la prevalencia es de 65%, la especie de mayor prevalencia con 51% es el *S.aureus*; mientras que en el 2009 la prevalencia fue del 60%. Siendo el *Estafilococo aureus* la especie de mayor prevalencia en heridas con 83%.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, en el período 2010; se encontró prevalencia de 53% de estafilococos causantes de infecciones en heridas. De ellos el 93% corresponde a la especie de Estafilococos aureus Por lo tanto, es la bacteria de mayor prevalencia en heridas.

Comparando con datos obtenidos en Estadística en esta misma institución de salud pública en los tres años anteriores, la prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas obtenidos en este estudio fue menor a la reportada en el 2007 que fue del 63%; y la registrada en el 2008 que fue del 65%; mientras que la prevalencia en el 2009 fue del 60% mayor a la reportada en el presente estudio. Entre los resultados del 2007 a 2010 existe una ligera variación, teniendo en cuenta que en el 2010 los resultados obtenidos son del período febrero a mayo a diferencia de los anteriores que se realizaron en años completos.

Finalmente radica aquí la importancia de realizar estudios de prevalencias de Estafilococos en nuestra ciudad, lo que permitirá obtener estudios muy importantes para el área de epidemiología. Ya que existe una marcada diferenciación con los resultados expuestos en investigaciones realizadas en otros países con situaciones ambientales, culturales, sociales, económicas y estilo de vida diferentes a las nuestras.

---

<sup>18</sup>García, Luis, "Revista de Chicago de medicina- Detección de Estafilococos", ([http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S013865572009000300004&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S013865572009000300004&script=sci_arttext)) 2009.

<sup>19</sup>Alburez, Claudia, "RevistadesaludPublicadeGuatemala", ([http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049891999000300006&script=sci\\_rtttext](http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049891999000300006&script=sci_rtttext))2008.

<sup>20</sup> Zebala, Haro, "Revista de salud pública Infect" (2005);19 (Supl.2): S 119-124

# VI. CONCLUSIONES

## VI. CONCLUSIONES

Al finalizar la presente investigación Titulada “Prevalencia de Estafilococos como agente causal de infecciones en heridas de Pacientes que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, durante el Período Febrero – Mayo del 2010”, puedo concluir:

- a. Se utilizó técnicas analíticas como tinción de Gram para diferenciar cocos Gram positivos de Gram negativos en las muestras de heridas, cultivos en agar sangre y Mac-Conkey y pruebas bioquímicas como: catalasa, coagulasa, TSI, urea, SIM y citrato para identificación de especies.
- b. Mediante pruebas bioquímicas como la catalasa y prueba de la coagulasa diferencié especies de Estafilococos aureus y epidermidis como agente causal de infección.
- c. De los 81 pacientes que se les realizó el examen de heridas, 43 casos fueron infecciones provocadas por Estafilococos con una prevalencia de 53%, del cual se realizó el estudio de las diferentes especies de Estafilococos de mayor prevalencia: 40 casos de *Estafilococos aureus* correspondiente a un 93%, Por lo tanto es la especie de mayor prevalencia. Existiendo una ligera relación con datos estadísticos obtenidos en el Hospital Isidro Ayora. La prevalencia de infecciones causadas por Estafilococos en heridas para el año 2007 es del 63%; en el 2008 la prevalencia es de 65%, mientras que en el 2009 la prevalencia fue del 60%.

# VII. RECOMENDACIONES

## VII. RECOMENDACIONES

- a) Implementar en la Universidad Nacional de Loja, Área de la Salud Humana por medio de la carrera de Laboratorio Clínico, Proyectos de investigación científica de infecciones producidas por Estafilococos en heridas, ya que de esta manera contribuirán con todos los profesionales de la Salud y así disminuiría las prevalencias de infecciones en heridas ocasionadas por Estafilococos.
- b) Dentro de los hospitales sería factible y de mucha importancia la implementación de protocolos para heridas infectadas
- c) La correlación con próximos trabajos de investigación concernientes al presente estudio, permitirá obtener cuadros estadísticos muy importantes para el área de epidemiología.
- d) Se recomienda realizar este tipo de estudio no solamente en nuestra ciudad, sino también en la provincia y el país, para así favorecer el mejoramiento de los diagnósticos médicos.

# BIBLIOGRAFÍA

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Eastham. Guía de Laboratorio para el Diagnóstico Clínico. 1ra ed. Buenos aires. panamericana. 1978. Págs: 51-53.
2. Fischbach. Manual de Pruebas Diagnósticas. 5ta ed. México. Interamericana. 1997. Págs: 476-477.
3. Gilberto, A. Interpretación clínica del laboratorio. 6 ed. Bogotá. Médica. 2000. Pág: 447.
4. Hok, W. Métodos clínicos. 2da ed. México. Interamericana. 1980. págs: 243-248.
5. Jawetz, JL. Microbiología médica. México. 2002. págs: 243-250.
6. Laguna, J. Bioquímica de Laguna. 5ta ed. México. Interamericana. 2002. Pág: 134
7. Linch R. Métodos de Laboratorio. 2da ed. México. Interamericana. 1972. Págs.: 931-932.
8. Murray, P. Microbiología Médica. 5ta ed. Madrid. médica panamericana. 2007. Págs: 217, 326-329.
9. Prats, G. Microbiología Clínica. 1ra ed. España. médica panamericana. 2005. págs: 35-37.
10. Struthers, K. Bacteriología Clínica. España. 2005. pags: 37-38.
11. Thomas, D. Microbiología médica. 2da ed. México. Interamericana. 1993. Págs: 185-189.

12. Vandepitte, J. Métodos básicos de laboratorio en bacteriología clínica. Ginebra- suiza.1993. págs: 62-72.
13. Molinos,Sonia, "Condiciones anaerobias del Staphylococcus", ([http://www.ispch.cl/labam/ser lab/aerobios Staphylococcus.html](http://www.ispch.cl/labam/ser%20lab/aerobios%20Staphylococcus.html)) 2009.
14. Romero, R,"clasificación de bacterias", ([www.freewebs.com / alfa-pxp-forte](http://www.freewebs.com/alfa-pxp-forte)) 2009.
15. Wolk,William,"Estafilococos",(<http://microbiosdetrigoso.blogspot.com/2009/02/estafilococo.html>) 2007.
16. Zangronis, Luis,"InfeccionesEstafilocócicas",(<http://kidshealt.org/teen/en-espanol/infecciones/staph-esp.htm>])2009.
17. Cortez,José, "Monografías de estafilococos",([http:// www.monografias.com/trabajos16/ estafilococos/estafilococosis. Shtml](http://www.monografias.com/trabajos16/estafilococos/estafilococosis.Shtml)) 2009.
18. García, Luis, "Revista de Chicago de medicina- Detección de Estafilococos",([http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S01386557200900030004&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S01386557200900030004&script=sci_arttext)) 2009.
19. Alburez,Claudia,"RevistadesaludPublicadeGuatemala",([http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049891999000300006&script=sci\\_rtext](http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049891999000300006&script=sci_rtext))2008.
20. Zebala, Haro, "Revista de salud pública Infect" (2008);19 (Supl.2): S 119-124

# ANEXOS

## ÍNDICE DE ANEXOS.

1. Instrumentos de recolección de datos.....	49
2. Procedimientos.....	51
3. Trabajo de campo.....	62
4. Solicitud dirigida al Director del Hospital Isidro Ayora para realizar trabajo de campo	
5. Certificación del trabajo de campo por parte de la Jefe del Laboratorio	
6. Certificación del trabajo de recopilación de datos de prevalencia de Estafilococos en heridas, por parte de los responsables de Estadística.	





### **ANEXO 3.- Protocolo para diferenciar cocos Gram positivos de Gram negativos, mediante tinción de Gram en las muestras de heridas.**

#### **Método de la tinción de Gram**

El empleo de la solución y del método de tinción de Gram, es de enorme importancia bacteriológica y ha permitido clasificar morfológicamente en dos grandes grupos que facilitan su estudio:

1. Bacterias Gram positivas
2. Bacterias Gram negativas.

#### **Toma de la muestra**

Preparar los materiales a utilizar como son: Hisopo estéril, rotular tubo de ensayo estéril con tapa y un portaobjetos con la misma numeración.

Con las normas de asepsia, colocándose guantes estériles, mascarilla y limpiando el área de la herida con solución de alcohol, se procede a tomar la muestra con la ayuda de un hisopo del área donde se encuentra la herida. Y de inmediato colocar el hisopo en el tubo de ensayo estéril.

#### **Protocolo**

**Muestra:** Frotis de muestra de la herida en un portaobjetos.

**Método:** Tinción de Gram/Microscopía

Una vez preparado y fijado el frotis se procede a la coloración en la siguiente forma:

1. Aplicar la solución decolorante violeta cristal durante 1 minuto
2. Lavar con agua, descartando este colorante.
3. Poner la solución de lugol durante 1 minuto
4. Lavar con agua nuevamente el frotis
5. Poner la mezcla de alcohol- acetona y mover la lamina portaobjetos suavemente para lograr una decoloración uniforme

6. Lavar con agua
7. Poner el colorante de contraste, fucsina durante 20 segundos.
8. Lavar nuevamente con agua
9. Secar la placa ya sea al medio ambiente o pasándola por la llama del mechero.
10. Observar al microscopio utilizando el lente de inmersión (100x), por consiguiente se debe poner una gota de aceite de inmersión para luego reportar.

## **ANEXO 4.- Cultivo de Agar sangre**

### **Preparación del medio de cultivo Agar sangre.**

1. Realizar la esterilización del área donde se prepara los medios de cultivo y colocar todos los materiales necesarios.
2. En un matraz verter agua destilada, con la ayuda de una probeta medir los 500ml de agua destilada y trasvasar en el matraz elenmeyer.
3. Encerar la balanza y proceder a pesar la cantidad de 20gr de Agar sangre y trasvasar en el matraz con los 500ml de agua destilada para luego colocar un tapón al matraz.
4. Mezclar la preparación dando rotaciones suaves, y de inmediato colocar la preparación del Agar al calor.
5. Con la ayuda de un guante agitar suavemente la preparación hasta que hierva.
6. Luego retirar la preparación del fuego y dejar que se enfríe, para colocar la sangre y mezclar.
7. Esterilizar el área donde se colocará las cajas petri estériles y verter el medio en las cajas con la tapa hacia arriba hasta que se solidifique el medio.
8. Finalmente los medios de Agar sangre preparadas se deben colocar en refrigeración para conservarlos hasta su uso.

### **Procedimiento para realizar la siembra de la muestra de heridas en Agar sangre**

1. Rotular el Agar con el Nro. del paciente
2. Con el hisopo que se tomo la muestra se procede a la inoculación de la muestra en una placa de agar sangre.
3. Rotar toda la superficie del hisopo sobre el primer cuadrante de la placa, donde se inoculó la muestra.
4. A continuación esterilizar el asa para proceder a sembrar los tres cuadrantes restantes de la placa.
5. Colocar el cultivo en la incubadora por 24 horas-48 horas.

6. Revisar las placas a las 24h de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación por 24h más.

### **Cultivo de Agar Mac-Conkey**

El agar Mac- Conkey es un medio sólido, diferencial y selectivo. Se usa para la discriminación de bacterias con capacidad de fermentar la lactosa (Lac + y -).

#### **Preparación del medio de cultivo Agar Mac-Conkey.**

1. Realizar la esterilización del área donde se prepara los medios de cultivo y colocar todos los materiales necesarios.
2. En un matraz verter agua destilada, con la ayuda de una probeta medir los 500ml de agua destilada y trasvasar en el matraz elenmeyer.
3. Encerar la balanza y proceder a pesar la cantidad de 20gr de Agar Mac-Conkey y trasvasar en el matraz con los 500ml de agua destilada para luego colocar un tapón al matraz.
4. Mezclar la preparación dando rotaciones suaves, y de inmediato colocar la preparación del Agar al calor.
5. Con la ayuda de un guante agitar suavemente la preparación hasta que hierva.
6. Luego retirar la preparación del fuego y dejar que se enfríe.
7. Esterilizar el área donde se colocará las cajas petri estériles y verter el medio en las cajas con la tapa hacia arriba hasta que se solidifique el medio.
8. Finalmente los medios de Agar Mac-Conkey preparadas se deben colocar en refrigeración para conservarlos hasta su uso.

#### **Procedimiento para realizar la siembra de la muestra de heridas en Agar Mac-Conkey**

1. Rotular el Agar con el Nro. del paciente
2. Con el hisopo que se tomo la muestra se procede a la inoculación de la muestra en una placa de agar Mac-Conkey.

3. Rotar toda la superficie del hisopo sobre el primer cuadrante de la placa, donde se inoculó la muestra.
4. A continuación esterilizar el asa para proceder a sembrar los tres cuadrantes restantes de la placa.
5. Colocar el cultivo en la incubadora por 24 horas-48 horas.
6. Revisar las placas a las 24h de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación por 24h más.

## **ANEXO 5.- Pruebas bioquímicas: catalasa, coagulasa, TSI, urea, SIM y citrato para diferenciación de especies.**

### **Prueba de la catalasa**

La catalasa es una enzima propia de la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que poseen citocromos, con la excepción de *Streptococos*. Su función es descomponer el peróxido de hidrógeno, desprendiendo oxígeno libre.

Esta prueba se realiza a temperatura ambiente.

#### **Procedimiento**

Se coloca una gota de solución de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos

Sobre la solución se vierte una pequeña cantidad de las bacterias en crecimiento. La formación de burbuja (liberación de oxígeno) indica una prueba Positiva.

### **Prueba de la coagulasa**

#### **Procedimiento.**

El plasma citratado de conejo o humano se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o colonias en crecimiento sobre Agar y se incuba a 37°C. Si se forma coágulos en 1-4 horas la prueba es positiva.

### **Prueba del 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 ácido sulfhídrico (SH<sub>2</sub>).

Esta es una prueba específica para la identificación de la familia Enterobacterias, con objetivo de diferenciar entre:

- a. bacterias fermentadoras de la glucosa
- b. bacterias fermentadoras de la lactosa
- c. bacterias fermentadoras de sacarosa
- d. bacterias productoras de SH<sub>2</sub> a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre<sup>14</sup>.

**Procedimiento:**

Inocular los tubos de TSI con punta (asa recta). Introducir la punta hasta 3 a 5 mm. del fondo del tubo. Tras retirar la punta del asa recta del fondo, estriar el pico de flauta con un movimiento hacia uno y otro lado. Incubar a 37°C durante 24 horas.

**Resultados:**

- Pico de flauta alcalino/fondo alcalino: no hay fermentación de azúcares. Característica de bacterias no fermentadoras.
- Pico de flauta alcalino/fondo ácido: Glucosa fermentada, lactosa ni sacarosa fermentadas.
- Pico alcalino/fondo negro: Glucosa fermentada, ni lactosa ni sacarosa fermentadas, producción de ácido sulfhídrico.
- Pico de flauta ácido/fondo ácido: Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas. Puede producirse SH<sub>2</sub>

A estos resultados se les agrega el resultado de la producción de gas.

**Prueba de la urea**

Se utiliza para la valoración de la producción de ureasa por algunas enterobacterias. Este medio contiene glucosa, peptona, urea y rojo de fenol.

Las bacterias que producen ureasa a partir de la urea dan lugar al carbonato de amonio y el indicador se vuelve rojo púrpura<sup>14</sup>.

Se cultiva el microorganismo en slant en agar urea de Christensen. Este medio se complementa después del autoclavado con 50ml/l de urea. Ésta será degradada por aquellos microorganismos capaces de producir el enzima ureasa. Esta degradación produce amoniaco que hará variar el color del indicador de amarillo a rojo, poniéndose así de manifiesto la actividad ureasa.

### **Resultado**

Positivo: cuando hay cambio de color en el medio de amarillo a rosa intenso.

Negativo: cuando se mantiene el color del medio amarillo.

### **Prueba de SIM**

Este medio se utiliza para tres pruebas bioquímicas: la del sulfuro de hidrógeno (S), la del indol (I) y la motilidad (M). Este medio enriquecido con triptófano, aminoácido suministrado por una peptona adecuada que se descompone en indol por acción de algunas bacterias. Para comprobarlo pueden realizarse las pruebas de Erlich o de Kovac's: Se requiere agregar unas gotas de reactivo de Erlich o de Kovac's a la superficie del medio entubado después de que han crecido las colonias<sup>14</sup>. La reacción positiva hará que la solución cristalina adquiera un color rosa fuerte o rojo. De no ocurrir esto la prueba es entonces negativa.

La motilidad (M) a través del medio semisólido se traduce por diseminación de la opacidad bacteriana a partir del trayecto de la picadura de inoculación (reacción positiva). Si la motilidad es negativa, el crecimiento se encuentra restringido al trayecto de la picadura.

### **Procedimiento**

Se inocula el agar recto con una estocada hasta el fondo e incubar por 24-48h a 37°C

Para Indol, agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Kovac.

## **Resultados**

Positivo: agregando las gotas de Erlich la solución cristalina adquiere un color rosa fuerte o rojo.

Negativo: No hay cambio de color

Motilidad, se traduce por diseminación de la opacidad bacteriana a partir del trayecto de la picadura de inoculación (reacción positiva).

Si la motilidad es negativa, el crecimiento se encuentra restringido al trayecto de la picadura.

Negro (precipitado), producción de H<sub>2</sub>S

## **Prueba del Citrato**

El principio de esta prueba consiste en determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento con alcalinidad resultante.

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<sup>14</sup>.

## **Procedimiento**

Se inocula el agar inclinado en una sola estría en el pico. Utilizar un cultivo de 24h en un medio sólido y cuidando no arrastrar medio de cultivo, ya que se pueden producir falsos positivos por crecimiento a partir del medio de cultivo del inóculo. Incubar a 37°C durante 24h.

## **Resultados.**

Positivo: Cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría y con un cambio de color de verde a azul.

Negativo: Cuando no hay crecimiento a lo largo de la estría y el medio conserva su color verde.

---

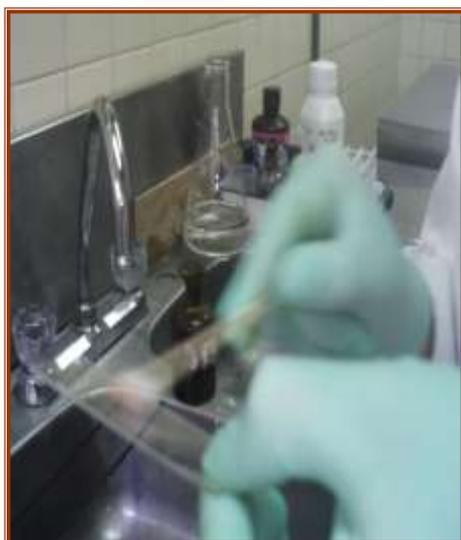
<sup>14</sup> Romero, R, "clasificación de bacterias", ([www.freewebs.com / alfa-pxp-forte](http://www.freewebs.com/alfa-pxp-forte)) 2009.

**ANEXO 6.- Fotos del trabajo de campo en el Hospital Regional Isidro Ayora.**

**Preparación del medio Agar Sangre**



## Tinción de Gram



**Siembra de muestras de heridas en medio de cultivo agar sangre**



**Crecimiento de colonias Estafilococos.**



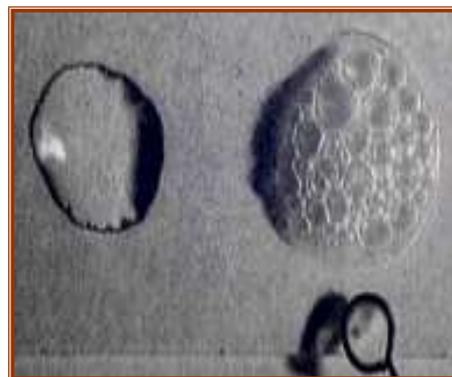
**Crecimiento de colonias de Escherichia coli en agar Mac-Conkey**



**Pruebas Bioquímicas**



**Prueba de la catalasa**



**Prueba de la coagulasa**

