

Universidad Católica de Santa María

“IN SCIENTIA ET FIDE ERIT FORTITUDO NOSTRA”

Facultad de Medicina Humana

Programa Profesional de Medicina Humana



Identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones en diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa 2012

Autor:

LUIS GONZALO VELARDE ACOSTA

Trabajo de Investigación para optar el Título Profesional de
Médico Cirujano

Arequipa - Perú

2012

DEDICATORIA

A mis queridos padres que hicieron posibles todos mis sueños, y que nunca dejaron que me dé por vencido.



EPÍGRAFE

1 Reyes 3:5-15

5 Y aparecióse a Jehová a Salomón en Gabaón una noche en sueños, y dijo le Dios: Pide lo que quisieras que yo te dé. 6 Y Salomón dijo: Tú hiciste gran misericordia a tu siervo David mi padre, según que él anduvo delante de ti en verdad, en justicia, y con rectitud de corazón para contigo: y tú le has guardado esta tu grande misericordia, que le diste hijo que se sentase en su trono, como sucede en este día. 7 Ahora pues, Jehová Dios mío, tú has puesto a mí tu siervo por rey en lugar de David mi padre: y yo soy mozo pequeño, que no sé cómo entrar ni salir. 8 Y tu siervo está en medio de tu pueblo al cual tú escogiste; un pueblo grande, que no se puede contar ni numerar por su multitud. 9 Da pues a tu siervo corazón dócil para juzgar a tu pueblo, para discernir entre lo bueno y lo malo: porque ¡quién podrá gobernar este tu pueblo tan grande? 10 Y agradó delante de Adonai que Salomón pidiese esto. 11 Y dijo le Dios: Porque has demandado esto, y no pediste para ti muchos días, ni pediste para ti riquezas, ni pediste la vida de tus enemigos, más demandaste para ti inteligencia para oír juicio; 12 He aquí lo he hecho conformé a tus palabras: he aquí que te he dado corazón sabio y entendido, tanto que no haya habido antes de ti otro como tú, ni después de ti se levantara otro como tú. 13 Y aun también te he dado las osas que no pediste, riquezas y gloria: tal, que entre los reyes ninguno haya como tú en todos tus días. 14 Y si anduvieres en mis caminos, guardando mis estatutos y mis mandamientos, como anduvo David tu padre, yo alargaré tus días. 15 Y como Salomón despertó, vió que era sueño: y vino a Jerusalén, y presentóse delante del arca del pacto de Jehová, y sacrifició holocausto, é hizo pacíficos; hizo también banquete a todos sus siervos

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MATERIAL Y MÉTODOS	
CAPÍTULO II: RESULTADOS.....	
CAPÍTULO III: DISCUSIÓN Y COMENTARIOS	
CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	
Anexo 1: Ficha de recolección de datos.....	
Anexo 2: Proyecto de Investigación	

RESUMEN

Antecedente: no hay estudios en nuestro medio acerca de los agentes microbiológicos presentes en ambientes quirúrgicos.

Objetivo: Realizar la identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.

Métodos: Toma de 22 muestras en cuatro centros quirúrgicos, una de Lima y tres de Arequipa, bajo el procedimiento de hisopado sobre el campo de. En las muestras se realizó tinción de Gram e identificación bioquímica de especie. Se muestran los resultados mediante estadística descriptiva.

Resultados: El 45,45% de muestras provienen del hospital 2 de Mayo (Lima), que tiene diez salas quirúrgicas. En segundo lugar está el Hospital Carlos Alberto Seguí Escobedo de EsSalud (Arequipa), con ocho salas de operaciones (36,36%), y finalmente tenemos tres salas en el Hospital MINSA Goyeneche nivel III (13,64%) y una sala del Hospital Cívico Policial Julio Pinto Manrique (4,55%). En todos los casos positivos se identificó a *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo; las salas donde se obtuvo crecimiento fueron en orden de frecuencia: Hospital 2 de Mayo (Lima), con la mitad de salas contaminadas, le sigue el Hospital Goyeneche de Arequipa, con un tercio de salas contaminadas, luego las salas de EsSalud, con un 12,50% de salas, y en el hospital policial Julio Pinto Manrique (Arequipa) no se obtuvo crecimiento bacteriano.

Conclusión: El crecimiento bacteriano en superficies de salas de operaciones es variado en salas de Arequipa y Lima, con rango entre 50% y 12,50% de salas evaluadas en hospitales de mayor complejidad.

PALABRAS CLAVE: salas quirúrgicas – crecimiento bacteriano – estafilococos coagulasa negativos.

ABSTRACT

Background: There are no studies in our country about microbiological agents in surgical environments.

Objective: To identify bacterial agents in surgical field of different surgical centers in Lima and Arequipa.

Methods: A total of 22 samples in were taken from four surgical centers, one of Lima and three from Arequipa under the swab procedure of surgical field. The samples were subjected to Gram staining and biochemical species identification. Results are shown using descriptive statistics.

Results: 45.45% of samples were from the hospital 2 de Mayo (Lima), which has ten operating rooms. In second place is the Hospital Carlos Alberto Seguin Escobedo EsSalud (Arequipa), with eight operating rooms (36.36%), and finally we had three surgical rooms at Hospital Goyeneche (13, 64%) and one hall of the Civic Police Hospital Julio Pinto Manrique (4.55%). In all cases w identified as positive *Staphylococcus* sp. coagulase negative; the surgical rooms where growth was obtained, in order of frequency, were: Hospital 2 de Mayo (Lima), with half of contaminated rooms, followed by the Goyeneche Hospital of Arequipa, with a third of contaminated rooms, and EsSalud Hospital, with 12.50% of surgical rooms; police hospital Julio Pinto Manrique (Arequipa) had no bacterial growth.

Conclusion: Bacterial growth on operating rooms surfaces is varied in halls of Arequipa and Lima, with a range between 50% and 12.50% of wards in higher complexity hospitals.

KEYWORDS: operating rooms - bacterial growth - coagulase-negative staphylococci.

INTRODUCCIÓN

La infección de origen bacteriana constituye una frecuente complicación en cirugía. La contaminación de heridas mientras se realiza alguna actividad quirúrgica es una causa común de infección, por ello con el paso de los años cada vez se le ha dado mayor importancia y se han tomado una serie de medidas para reducir su contaminación.

Se han realizado muchos estudios sobre la prevalencia de infecciones relacionadas al grado de contaminación y número de bacterias nosocomiales presentes en quirófanos antes de ser realizada alguna actividad quirúrgica; y los resultados de todas estas investigaciones concuerdan que la mayoría de clínicas y hospitales tienen un alto nivel de biocontaminación relacionado a un inadecuado mantenimiento y desinfección del ambiente.

Dado que no hay estudios en nuestro medio acerca de los aspectos microbiológicos de los ambientes quirúrgicos y siendo tan importante la bioseguridad en el campo de la salud, y más aun en el quirófano, el propósito del presente trabajo de investigación es el de determinar qué bacterias son las que tienen mayor prevalencia en superficies del quirófano de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.

No se conoce si existen microorganismos, como bacterias potencialmente patógenos, en la Sala de Operaciones de diferentes salas quirúrgicas, por lo que este estudio tiene como fin determinar la presencia de bacterias potencialmente patógenas presentes en la Sala de Operaciones de centros quirúrgicos de Lima y Arequipa, y así, tener conocimiento sobre el riesgo que tienen los pacientes que acuden al servicio para someterse a alguna intervención quirúrgica.

CAPÍTULO I

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación

Técnicas: En la presente investigación se aplicó la técnica de la identificación microbiológica por tinción Gram y la identificación bioquímica de especie.

Instrumentos: El instrumento que se utilizó consistió en una ficha de recolección de datos (Anexo 1).

Materiales:

- Fichas de investigación
- Material de escritorio
- Material de toma de muestras: hisopos, caldo enriquecedor, tubos de ensayo.
- Computadora personal con software de procesamiento de textos, base de datos y procesamiento estadístico.

2. Campo de verificación

2.1. Ubicación espacial: El presente estudio se realizó en diferentes hospitales y clínicas que cuentan con centro quirúrgico en la ciudad de Lima y Arequipa.

2.2. Ubicación temporal: El estudio se realizó en forma coyuntural en el mes de Diciembre 2012.

2.3. Unidades de estudio: Muestras microbiológicas tomadas de superficies de Sala

de Operaciones de los establecimientos de estudio.

Población: Veintidos muestras microbiológicas tomadas de superficies de Sala de Operaciones de los establecimientos de estudio, distribuidas de la siguiente manera:

- Hospital Nacional IV Dos de Mayo (Lima) 10 muestras
 - Hospital Nacional IV Carlos A. Segúin Escobedo 8 muestras
- Essalud (Arequipa):
- Hospital Nacional III Goyeneche (Arequipa): 3 muestras
 - Hospital Policial II My Julio Pinto Manrique (Arequipa) 1 muestra

3. Tipo de investigación: Se trata de un estudio de campo.

4. Nivel de investigación: es un estudio observacional descriptivo, prospectivo y transversal.

5. Estrategia de Recolección de datos

5.1. Organización

Se realizaron las coordinaciones con la dirección de los diferentes hospitales y clínicas de estudio para obtener la autorización para acceder a los ambientes quirúrgicos.

Se accedió a las salas quirúrgicas de manera estéril para tomar muestras de superficies antes de la realización de cirugías. Se realizó la toma de muestra bajo el procedimiento de hisopado estéril de un hisopo humedecido con caldo de urea de Stuart sobre el campo de operaciones (mesa de mayo) y la superficie cercana al campo (50 cm² alrededor). Las muestras recolectadas fueron remitidas a un laboratorio

microbiológico para la tinción de Gram y la identificación bioquímica de especie bajo técnica estándar.

Una vez concluida la recolección de datos, estos fueron organizados en bases de datos para su posterior interpretación y análisis.

5.2. Validación de los instrumentos

No se requiere de validación por tratarse de un instrumento para recoger información.

5.3. Criterios para manejo de resultados

a) Plan de Procesamiento

Los datos registrados en el Anexo 1 fueron codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

b) Plan de Clasificación:

Se empleó una matriz de sistematización de datos en la que se transcribieron los datos obtenidos en cada Ficha para facilitar su uso. La matriz fue diseñada en una hoja de cálculo electrónica (Excel 2010).

c) Plan de Codificación:

Se procedió a la codificación de los datos que contenían indicadores en la escala nominal y ordinal para facilitar el ingreso de datos.

d) Plan de Recuento.

El recuento de los datos fue electrónico, en base a la matriz diseñada en la hoja de cálculo.

e) Plan de análisis

Se empleó estadística descriptiva con distribución de frecuencias (absolutas y relativas), medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (rango, desviación estándar) para variables continuas; las variables categóricas se presentan como proporciones. Para el análisis de datos se empleó la hoja de cálculo de Excel 2010 con su complemento analítico.





**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 1

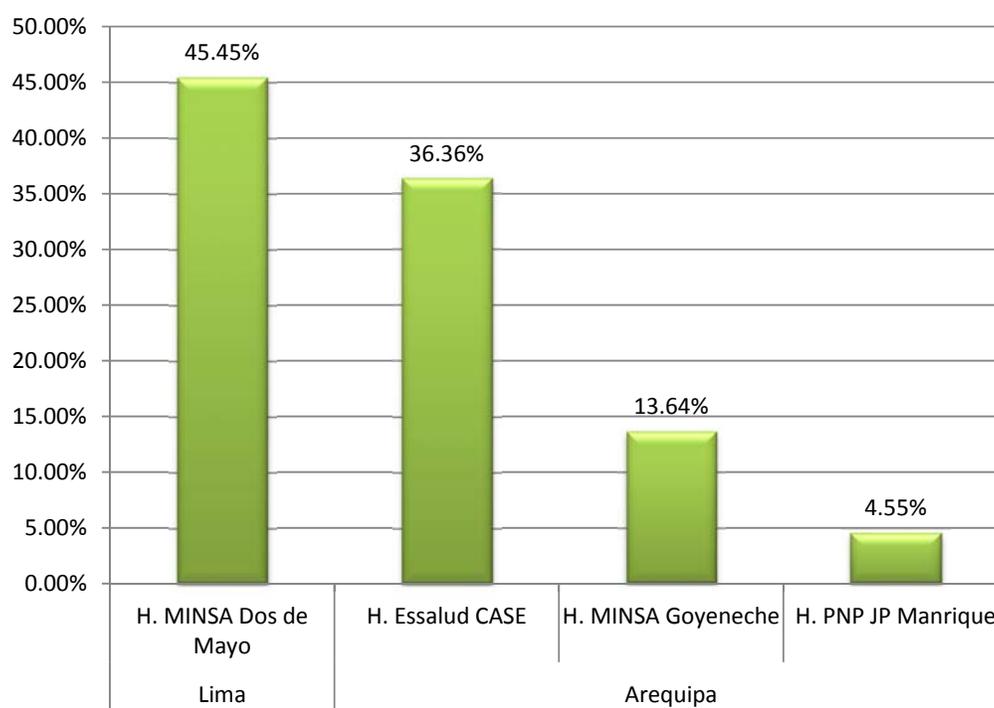
**Distribución de muestras tomadas según ubicación de la sala de
operaciones**

		N°	%
Lima	H. MINSA Dos de Mayo	10	45,45%
Arequipa	H. Essalud CASE	8	36,36%
	H. MINSA Goyeneche	3	13,64%
	H. PNP JP Manrique	1	4,55%
Total		22	100,00%

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Gráfico 1

**Distribución de muestras tomadas según ubicación de la sala de
operaciones**



**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 2

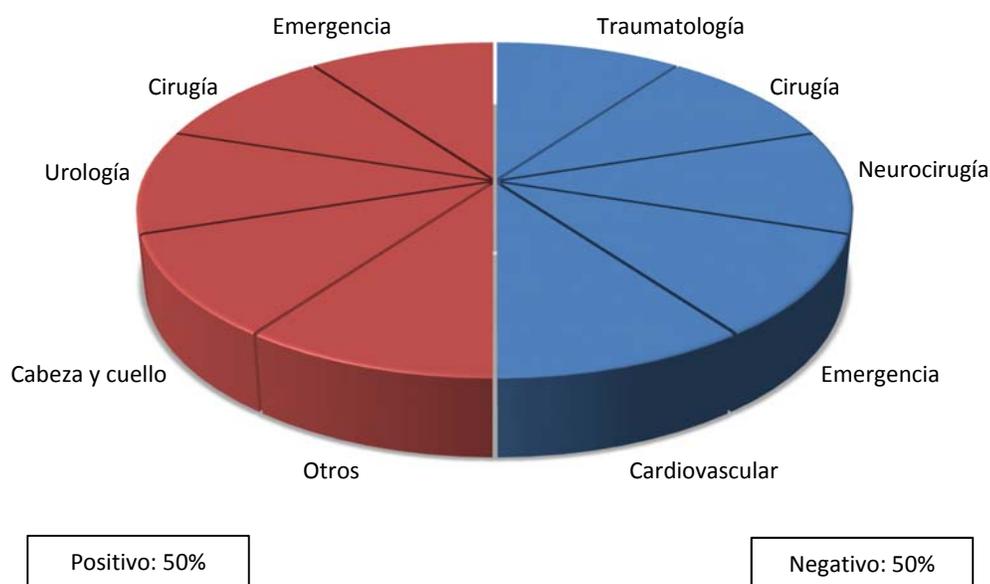
Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital 2 de Mayo

Sala	Uso	Resultado
Sala 1	Otros	Negativo
Sala 2	Cabeza y cuello	Negativo
Sala 3	Traumatología	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)
Sala 4	Urología	Negativo
Sala 5	Cirugía	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)
Sala 6	Cirugía	Negativo
Sala 7	Neurocirugía	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)
Sala 8	Emergencia	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)
Sala 9	Emergencia	Negativo
Sala 10	Cardiovascular	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Gráfico 2

Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital 2 de Mayo



**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 3

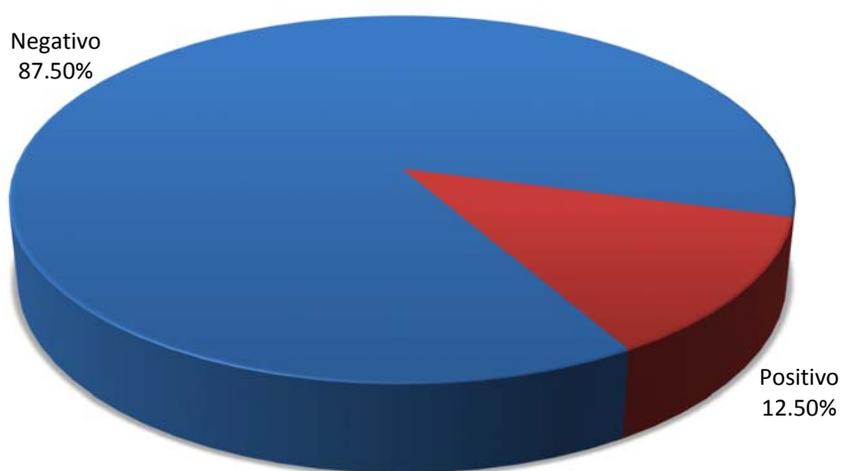
Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital CASE

Sala	Resultado
Sala 1	Negativo
Sala 2	Negativo
Sala 3	Negativo
Sala 4	Negativo
Sala 5	Negativo
Sala 6	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)
Sala 7	Negativo
Sala 8	Negativo

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Gráfico 3

Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital CASE



**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 4

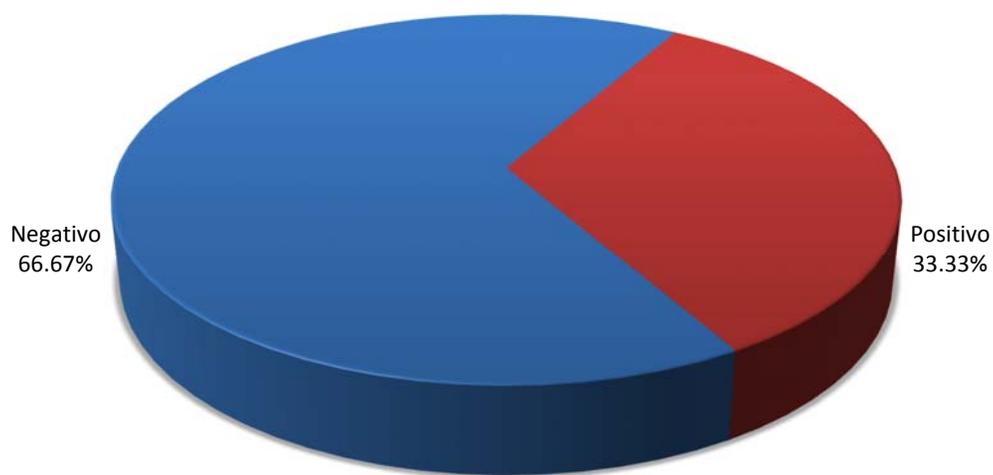
Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital Goyeneche

Sala	Resultado
Sala 1	Negativo
Sala 2	Negativo
Sala 3	<i>Staphylococcus</i> sp. Coagulasa (-)

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Gráfico 4

Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital Goyeneche

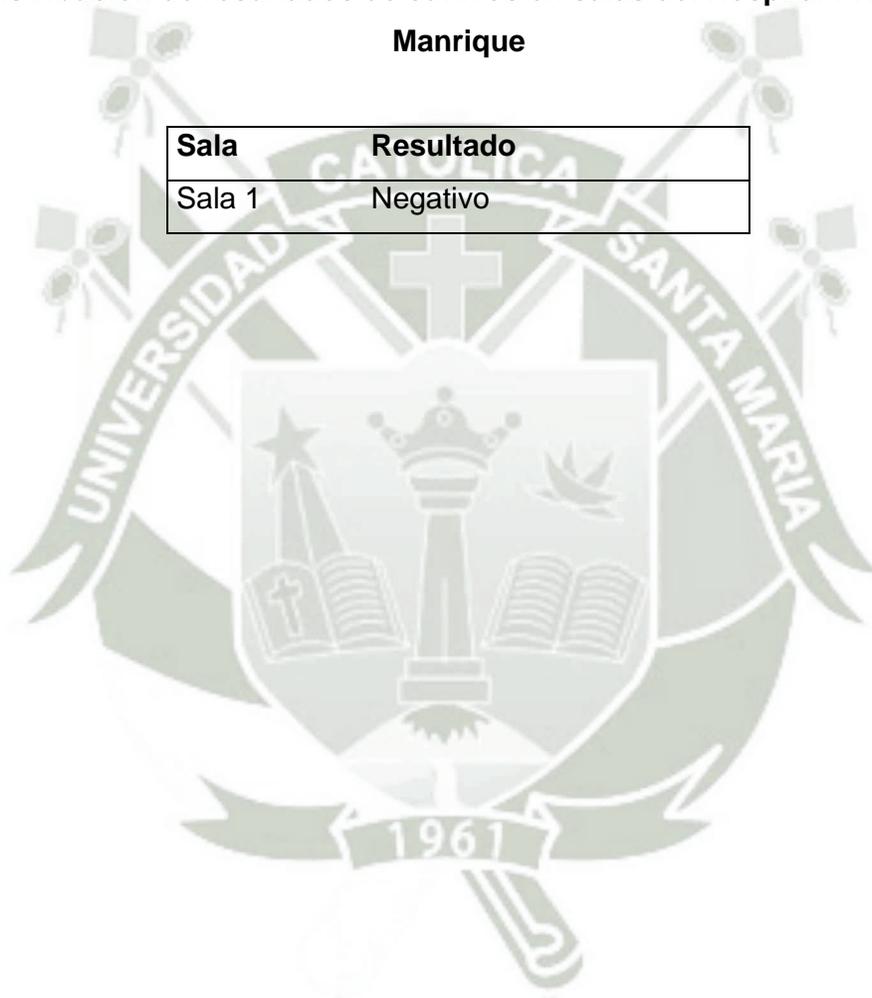


**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 5

**Distribución de resultados de cultivos en salas del Hospital PNP JP
Manrique**

Sala	Resultado
Sala 1	Negativo



**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Cuadro 6

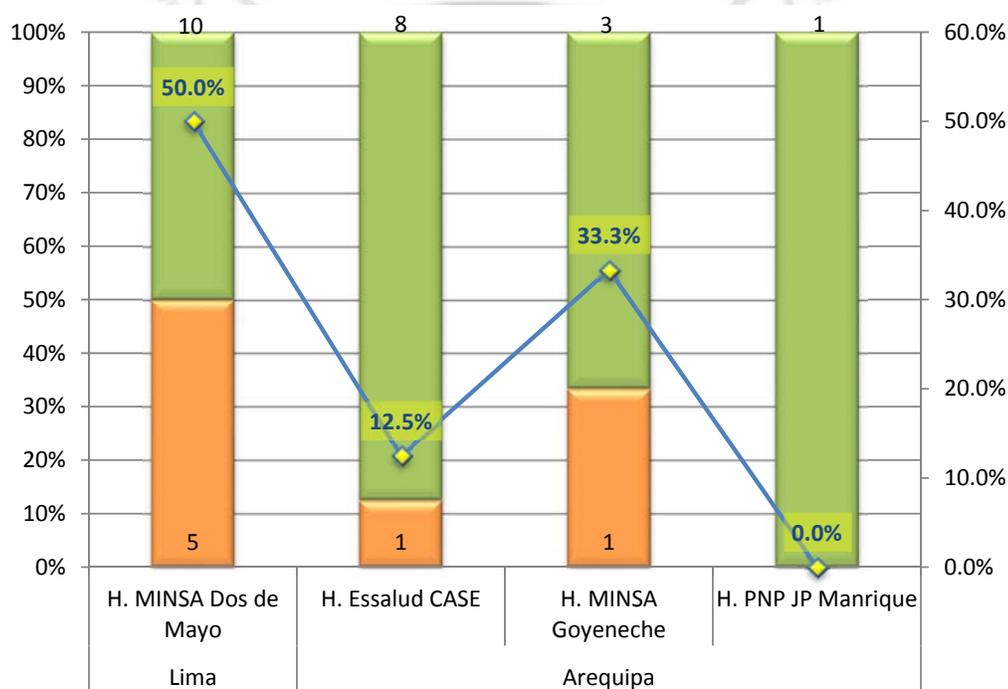
**Resumen de los resultados de cultivos en las diferentes salas de
operaciones**

		Total	Positivos	Negativos	Positividad
Lima	H. MINSA Dos de Mayo	10	5	5	50,0%
Arequipa	H. Essalud CASE	8	1	7	12,5%
	H. MINSA Goyeneche	3	1	2	33,3%
	H. PNP JP Manrique	1	0	1	0,0%
Toral		22	7	15	31,82%

**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS EN CAMPO DE SALA DE
OPERACIONES EN DIFERENTES CENTROS QUIRÚRGICOS DE LIMA Y AREQUIPA 2012**

Gráfico 5

**Resumen de los resultados de cultivos en las diferentes salas de
operaciones**





DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

El presente estudio buscó conocer el resultado de la identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa. Se realizó la presente investigación debido a posibles efectos perjudiciales a la población expuesta además de mejorar la conducta del personal en sala de operaciones para su protección y eficiencia.

Para tal fin se realizó una toma de 22 muestras en cuatro centros quirúrgicos, una de Lima y tres de Arequipa, bajo el procedimiento de hisopado sobre el campo de operaciones (mesa de mayo y 50 cm² de superficie cercana al campo). En las muestras se realizó tinción de Gram e identificación bioquímica de especie. Se muestran los resultados mediante estadística descriptiva.

En el **Cuadro y Gráfico 1** se observa la distribución de las muestras tomadas en los diferentes centros; el 45,45% de muestras provienen del hospital 2 de Mayo (Lima), que tiene diez salas quirúrgicas, por ser un hospital de referencia nivel IV del MINSA. En segundo lugar está el Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo de EsSalud (Arequipa), también hospital de referencia nivel IV, con ocho salas de operaciones (36,36%), y finalmente tenemos tres salas en el Hospital MINSA Goyeneche nivel III (13,64%) y una sala del Hospital Cívico Policial Julio Pinto Manrique (4,55%).

El **Cuadro y Gráfico 2** muestran la distribución de los resultados del muestreo de las salas quirúrgicas del Hospital 2 de Mayo. De las diez salas muestreadas, cinco (50%) fueron negativas y el resto positivas; en todos los casos en que se encontró

crecimiento bacteriano se trató de *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo. Se encontró este crecimiento en la sala de traumatología, en una de las dos salas de cirugía, en la sala de neurocirugía, en una de las dos salas de emergencia, y en la sala de cirugía cardiovascular; las salas donde no se encontró crecimiento bacteriano fueron las de cabeza y cuello, urología, una de cirugía y una de emergencia, y en la sala de otros procedimientos.

.....

En el estudio de las salas de Hospital CASE EsSalud de Arequipa (**Cuadro y Gráfico 3**), se encontró que de 8 salas una presentó crecimiento bacteriano (12,50%), también por *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo.

.....

El **Cuadro y Gráfico 4** muestran los resultados de los cultivos de las tres salas del Hospital Goyeneche; en ellos, se encontró crecimiento bacteriano e una de las salas (33,33%), también por *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo. Y en el **Cuadro 5** se muestra el hallazgo de la sala de operaciones del Hospital Policial Julio Pinto Manrique, donde no se obtuvo crecimiento.

.....

En el **Cuadro 6 y Gráfico 5** se muestra el consolidado del estudio bacteriológicos de las superficies de las salas de operaciones estudiadas; si se considera a *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo como un contaminante proveniente de la flora cutánea, las salas más contaminadas se encuentran en el Hospital 2 de Mayo de Lima, que tiene la mitad de sus salas contaminadas, le sigue el Hospital Goyeneche de

Arequipa, con un tercio de salas contaminadas, y luego están las salas de EsSalud, con un 12,50% de salas, tal vez las menos contaminadas, ya que tiene más salas que el hospital policial, que contando con una sala, no mostró crecimiento bacteriano. Si se intenta hablar de un “promedio” global, de las salas evaluadas a nivel nacional en los dos principales departamentos del país, habría un 31,82% de salas contaminadas con gérmenes pertenecientes a la flora cutánea, y no se encontraron gérmenes patógenos.





CONCLUSIONES

Primera. Se encontró crecimiento bacteriano en superficies de sala de operaciones de los diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa, a predominio de las salas del Hospital 2 de Mayo de Lima, que tiene la mitad de sus salas contaminadas, le sigue el Hospital Goyeneche de Arequipa, con un tercio de salas contaminadas, y luego las salas del HCASE de EsSalud Arequipa, con un 12,50% de salas; la sala del hospital policial Julio Pinto Manrique de Arequipa no mostró crecimiento bacteriano.

Segunda. Los gérmenes que crecen en las superficies de los diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa son *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo.

SUGERENCIAS

- 1) Promover el monitoreo semanal, de los agentes bacteriológicos en las superficies y aire en las salas de operaciones de los diferentes centros de salud
- 2) Realizar un monitoreo a nivel nacional en las diferentes salas de operación para identificar los agentes más representativos en nuestro país
- 3) Limpiar las superficies potencialmente contaminadas con hipoclorito de sodio al 0.5% y además con glutaraldehído al 2%
- 4) Capacitación continua del personal de sala de operaciones en las técnicas de asepsia y antisepsia
- 5) Proveer a la sala de operaciones de todo el material y equipo que se requiere durante la desinfección de la misma y de las necesidades que se presenten

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Madigan M.T, Martingo J. M. y Jack Parker. 2004. Décima Edición. Brock Biología de los Microorganismos Prentice Hall
- 2) Mahon, C. and Manuselis G. 2000. Textbook of Diagnostic Microbiology. Second Edition. W.B. Saunders Company. USA
- 3) Prescott, L.; Harley, J.; Klein, D. 1999. Microbiología. Cuarta edición. McGraw-Hill Interamericana.
- 4) Tortora G. J., B. R. Funke and Ch. L. Case 2007. Introducción a la Microbiología 9 na Edición. Editorial Médica Panamericana.
- 5) Delgado W, Flores G, Vives V. Control de las infecciones transmisibles en la práctica odontológica: manual de procedimiento. 1995; U.P.C.H
- 6) Gardner J, Jarvis W, Emori G, et al. Special article CDC definitions for nosocomial infections. American Journal of infection control. 1988; 16(7): 128-40
- 7) Ministerio de Salud del Perú. Bioseguridad en Odontología. Ministerio de Salud del Perú (14 de febrero del 2010): www.minsa.gob.pe/portal/p2005/documentos/dgsp/BIOSEGURIDAD%2520EN%2520ODONTOLOGIA.doc
- 8) Vessoni TC, Gava P, Silva AM. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs; BMC Infect Dis. 2001; 1: 16
- 9) Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, Kaufmann ME, Turton J, Glover J, et al. Outbreak of Carbapenem-Resistant Pseudomonas aeruginosa Producing VIM-8,

- a Novel Metallo- β -Lactamase, in a Tertiary Care Center in Cali, Colombia. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(11): 5094–101
- 10) Castiglia P, Liguori G, Montagna MT, Napoli C, Pasquarella C, Bergomi M, et al. Italian multicenter study on infection hazards during dental practice: Control of environmental microbial contamination in public dental surgeries. *BMC Public Health.* 2008; 8: 18
- 11) Velasco C., Velazquez A., Osorio E. et al. Susceptibilidad microbiana de bacilos gran negativos de importancia médica, aislados de infecciones nosocomiales en pacientes menores de 5 años en 3 hospitales de Chiapas. *Bioquímica.* 2007; 32
- 12) Alemán SK. y González P. Condiciones de bioseguridad y control de infección en el área quirúrgica dental de la clínica multidisciplinaria "Estado de México" "Fes Zaragoza" (Trabajo de Grado) México, 2001
- 13) Berganza I. microbiota predominante en manos y uñas de cirujanos y personal paramédico de las áreas de cirugía, recién nacidos y postparto en un Hospital nacional de Guatemala. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala, 2003. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2199.pdf
- 14) Vines Zambrano G. Factores de riesgos contaminantes en quirófanos del Hospital Nicolás Coto Infante. Tesis de diplomado en Seguridad Industrial y Salud Ocupacional - DSISO. <http://hdl.handle.net/123456789/653>
- 15) D. Allo M, Tedesco M. Gestión del quirófano: consideraciones sobre la sala de operaciones y el control de las infecciones. *Surg Clin N Am* ;2005 (85) : 1291 – 1297



Anexo 1: Ficha de recolección de datos

Ficha N° _____

Establecimiento: _____

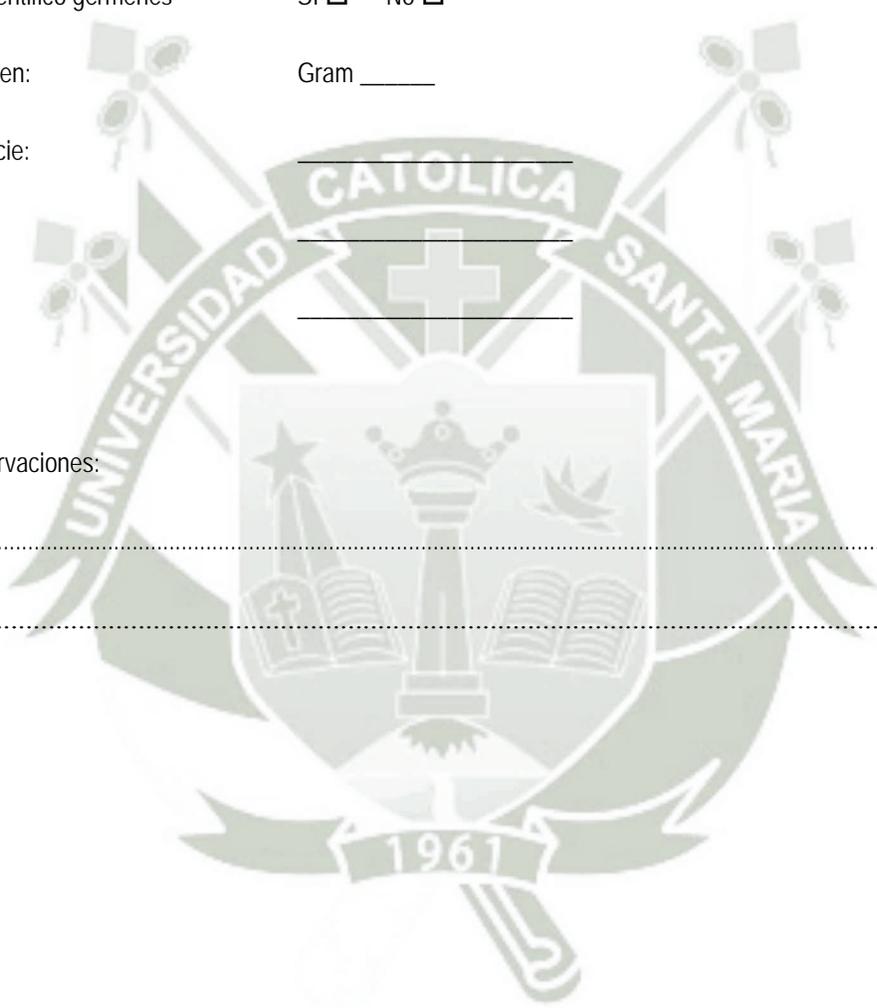
Se identificó gérmenes Sí No

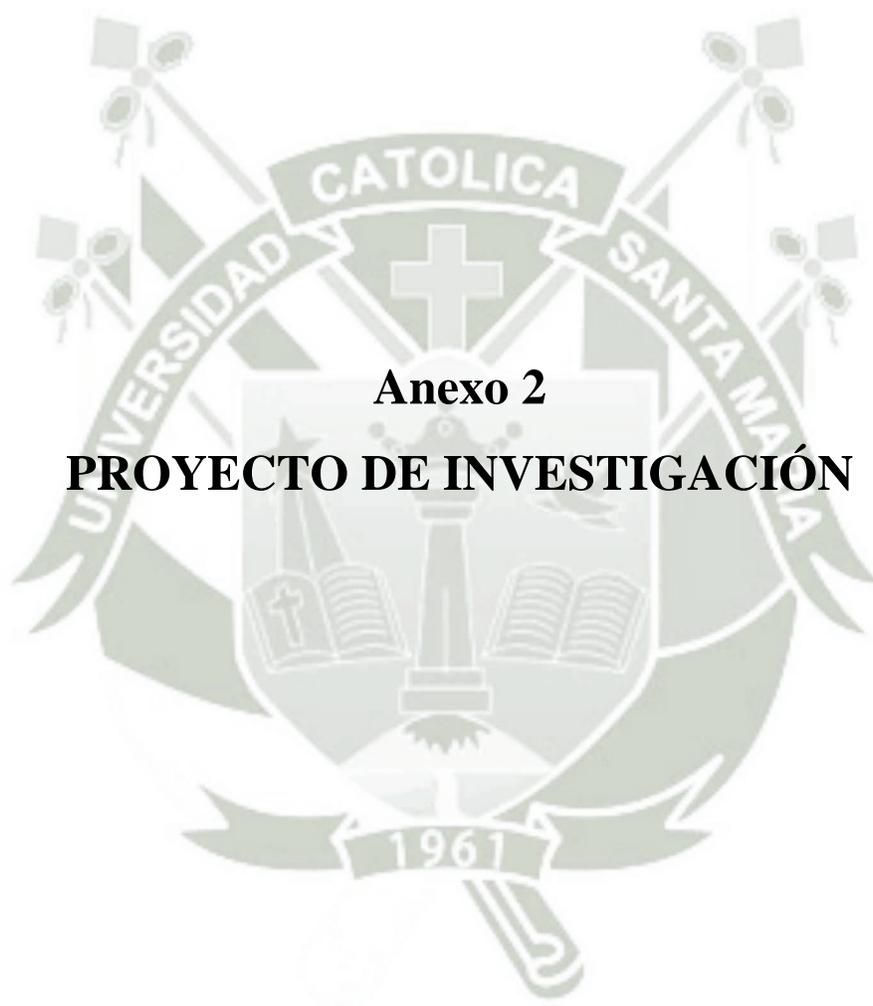
Germen: Gram _____

Especie: _____

Observaciones:

.....
.....





Universidad Católica de Santa María

“IN SCIENTIA ET FIDE ERIT FORTITUDO NOSTRA”

Facultad de Medicina Humana

Programa Profesional de Medicina Humana



“Identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones en diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa 2012”

Autor:

LUIS GONZALO VELARDE ACOSTA

Proyecto de Tesis para Optar el Título de Médico-Cirujano.

**Arequipa - Perú
2012**

I. PREÁMBULO

La infección de origen bacteriana constituye una frecuente complicación en cirugía. La contaminación de heridas mientras se realiza alguna actividad quirúrgica es una causa común de infección, por ello con el paso de los años cada vez se le ha dado mayor importancia y se han tomado una serie de medidas para reducir su contaminación (1).

Se han realizado muchos estudios sobre la prevalencia de infecciones relacionadas al grado de contaminación y número de bacterias nosocomiales presentes en quirófanos antes de ser realizada alguna actividad quirúrgica; y los resultados de todas estas investigaciones concuerdan que la mayoría de clínicas y hospitales tienen un alto nivel de biocontaminación relacionado a un inadecuado mantenimiento y desinfección del ambiente.

Dado que no hay estudios en nuestro medio acerca de los aspectos microbiológicos de los ambientes quirúrgicos y siendo tan importante la bioseguridad en el campo de la salud, y más aun en el quirófano, el propósito del presente trabajo de investigación es el de determinar qué bacterias son las que tienen mayor prevalencia en superficies del quirófano de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.

No se conoce si existen microorganismos, como bacterias potencialmente patógenos, en la Sala de Operaciones de diferentes salas quirúrgicas, por lo que este estudio tiene como fin determinar la presencia de bacterias potencialmente patógenas presentes en la Sala de Operaciones de centros quirúrgicos de Lima y

Arequipa, y así, tener conocimiento sobre el riesgo que tienen los pacientes que acuden al servicio para someterse a alguna intervención quirúrgica.

II. PLANTEAMIENTO TEORICO

1. Problema de investigación

1.1. Enunciado del Problema

¿Cuál es el resultado del monitoreo e identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones de diversos centros quirúrgicos de Lima y Arequipa, 2012?

1.2. Descripción del Problema

a) Área del conocimiento

- Área general: Ciencias de la Salud
- Área específica: Medicina Humana
- Especialidad: Cirugía
- Línea: Microbiología clínico-quirúrgica

b) Operacionalización de Variables

Variable	Indicador	Unidad / categoría	Escala
<i>Variable dependiente</i>			
Crecimiento bacteriano	Crecimiento en medio de cultivo	Positivo / Negativo	Nominal
Tipo de germen	Características de tinción Gram	Gram positivo / Gram negativo	Nominal
Especie bacteriana	Reacción a pruebas bioquímicas	Diversas especies	Nominal
<i>Variable independiente</i>			
Ubicación geográfica	Centro quirúrgico	Lima / Arequipa	Nominal

c) Interrogantes básicas

1. ¿Cuál es la frecuencia de crecimiento bacteriano en superficies de sala de operaciones de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa?
2. ¿Cuáles son los principales gérmenes que crecen en las superficies de los diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa?

d) **Tipo de investigación:** Se trata de un estudio de campo.

e) **Nivel de investigación:** es un estudio observacional descriptivo, prospectivo y transversal.

1.3. Justificación del problema

El presente estudio busca conocer los resultados de la identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones de diversos centros quirúrgicos de Lima y Arequipa. No se han realizado estudios

similares relacionados a la bacteriología clínico-quirúrgica en ambientes hospitalarios, lo que hace que nuestro estudio sea **original**.

Tiene **relevancia científica**, ya que se aplican principios de la microbiología para la identificación de gérmenes en áreas quirúrgicas; tiene **relevancia práctica** ya que permitirá identificar gérmenes que pueden ser potencialmente dañinos para pacientes que se someten a procedimientos quirúrgicos. Tiene **relevancia social**, ya que puede ayudar en la prevención y manejo de gérmenes en ambientes donde se atienden problemas de salud que pueden afectar a un gran sector de la población.

El estudio es **contemporáneo** debido a la importancia permanente de la presencia de gérmenes en áreas quirúrgicas hospitalarias.

El estudio es **factible** de realizar por tratarse de un diseño prospectivo en el que se cuenta con metodología estandarizada para identificación bacteriana.

Además de satisfacer la **motivación personal** de realizar una investigación en el área de la microbiología clínica, lograremos una importante **contribución académica** al campo de la medicina, y por el desarrollo del proyecto en el área de pregrado en medicina, cumplimos con las **políticas de investigación** de la Universidad en esta etapa importante del desarrollo profesional.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1. IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

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

Estas técnicas se utilizan en diferentes áreas, por ejemplo (2):

- En el área clínica donde es de capital importancia conocer cuál es el agente causal de la infección que presenta un paciente, de manera de poder tratarlo con agentes terapéuticos.
- En la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos donde las normas de control de calidad exigen la ausencia de ciertos microorganismos.
- En investigación básica donde se aísla un determinado microorganismo que debe identificarse para comprobar si se trata de un microorganismo conocido o de uno nuevo para poder clasificarlo.

Durante su ejercicio profesional, es muy importante que el farmacéutico conozca el fundamento de los métodos existentes para la identificación microbiana. En el caso del ejercicio comunitario, un farmacéutico, por ejemplo puede estar asesorando a un paciente que tiene una infección bacteriana, y al cual el médico le tomó una muestra para ser enviada al laboratorio para identificar el agente causal, si el profesional conoce el fundamento y los métodos de identificación microbiana puede explicarle al paciente la razón por la cual los resultados de la identificación del microorganismo y su antibiograma puede retrasarse algunos días.

Si se desempeña en el área de producción de medicamentos y cosméticos, la fabricación de éstos debe realizarse en áreas controladas libres de microorganismos, para evitar la contaminación del producto, y como consecuencia de ello, se produzca

su deterioro, o lo que es más grave que el producto contaminado le cause una infección a un paciente.

En el caso que el profesional se desempeñe en la industria de medicamentos y/o cosméticos, debe conocer las normas que rigen la calidad microbiológica del producto a ser elaborado, los microorganismos objetables y el fundamento de los métodos oficiales para descartar la presencia de éstos. También en el caso de la industria alimentaria, los alimentos son sometidos a una serie de controles microbiológicos para asegurar la ausencia de microorganismos que pueden causar enfermedades y/o descartar la presencia de toxinas capaces de causar intoxicaciones alimentarias.

Por estas razones, es importante conocer los métodos en los cuales se basa la identificación microbiana. No todos los microorganismos se identifican por las mismas técnicas. La mayor parte de los métodos se realizan en un laboratorio y se busca utilizar el menor número de procedimientos y ensayos posibles.

2.1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

En la mayoría de los casos la identificación no se realiza con base a un solo método, sino a la combinación de más de uno. Ejemplo: identificación de bacterias con base a criterios morfológicos, tinción diferencial, pruebas bioquímicas y serológicas (3).

Antes de proceder a discutir los métodos que se han enumerado, es importante hacer énfasis que para cada uno de ellos se requiere disponer de una muestra. Cuando se requiere identificar un agente que está causando una determinada patología, la

muestra debe proceder del sitio donde el microorganismo está causando el daño, o donde se multiplica. Algunos ejemplos de muestras que se utilizan en microbiología clínica tenemos: heces, orina, hisopado faríngeo, líquido cefalorraquídeo, sangre, lágrimas, semen, fluido vaginal, etc. También pueden utilizarse tejidos. Para aplicar algunos métodos se requiere aislar en forma pura el microorganismo de la muestra, pero para otros no se requiere realizar dicho aislamiento. Con fines de control de calidad de medicamentos, cosméticos y alimentos, la muestra a ser analizada, puede ser un producto en proceso o terminado (4).

a) Métodos basados en criterios morfológicos

Los rasgos morfológicos (estructurales) han ayudado a los taxonomistas por muchos años a clasificar organismos.

Los organismos superiores tienen rasgos anatómicos tan diferentes que pueden ser fácilmente utilizados en su clasificación, pero con respecto a los microorganismos, éstos lucen bajo el microscopio tan similares que se dificulta su clasificación. Es decir, que estos microorganismos que se ven tan parecidos bajo un microscopio, pueden diferir en propiedades bioquímicas, fisiológicas y/o serológicas. Sin embargo, aun cuando la morfología celular dice poco sobre las relaciones filogenéticas, sigue siendo útil para la identificación bacteriana. Por ejemplo: la presencia de endosporas y su localización resulta de mucha utilidad en la identificación de bacilos esporulados (3, 4).

b) Métodos basados en tinción diferencial

Es posible sacar conclusiones en relación con la morfología de una bacteria, examinando una lámina que fue sometida a un proceso de tinción diferencial. Estos criterios morfológicos encabezan las primeras etapas del proceso de identificación bacteriana.

La mayor parte de las bacterias, teñidas con Gram, las podemos clasificar como gram positivas o gram negativas, otras tinciones diferenciales, como la ácido resistente, se aplican a otro tipo de bacterias, como por ejemplo micobacterias.

Un examen microscópico de una lámina teñida por medio de gram o de una tinción diferencial es útil para obtener una información rápida sobre la calidad de un ambiente clínico. Por otro lado, un médico también puede obtener suficiente información de un reporte técnico de laboratorio para comenzar el tratamiento apropiado de un paciente (4).

c) Métodos basados en pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas han sido ampliamente utilizadas para diferenciar bacterias. Estas pruebas se fundamentan en demostrar si el microorganismo es capaz de fermentar azúcares, la presencia de enzimas, la degradación de compuestos, la producción de compuestos coloreados, etc. Aun bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies diferentes con base a pruebas bioquímicas. Por ejemplo, las bacterias entéricas gram negativas, forman un grupo muy grande y heterogéneo cuyo hábitat natural

es el tracto gastrointestinal de humanos y otros animales. Esta familia, *Enterobacteriaceae*, incluye a varios patógenos que causan síndromes diarreicos. (3).

Un gran número de ensayos han sido desarrollados de manera de identificar rápidamente al patógeno, para que posteriormente el médico, con base al reporte, indique el tratamiento adecuado, o para que los epidemiólogos puedan localizar la fuente de la infección.

Los géneros clínicamente más importantes de la familia Enterobacteriaceae son: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. El género *Escherichia*, *Enterobacter* y *Citrobacter* fermentan la lactosa con producción de ácido y gas, a diferencia de los géneros *Salmonella* y *Shigella* que no fermentan la lactosa (3).

Por otra parte, los medicamentos no estériles y/o productos cosméticos deben estar exentos de microorganismos patógenos tales como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus*. Estos productos deben ser controlados para verificar la ausencia de estos microorganismos. En la USP se describen los procedimientos a seguir para la identificación de estas bacterias, que se resumen en procedimientos de enriquecimiento, aislamiento y pruebas bioquímicas para su identificación final (5).

El tiempo necesario para la identificación de bacterias puede reducirse considerablemente con el uso de sistemas miniaturizados basados en pruebas bioquímicas. Estas herramientas que permiten reducir el tiempo del reporte,

en primer lugar fueron elaborados para bacterias de importancia médica, tales como las enterobacterias. Estos sistemas han sido diseñados para realizar varias pruebas bioquímicas simultáneamente y permitir la identificación en un tiempo más corto. Cada uno de los ensayos, consta de tubos miniaturizados que contienen el medio de cultivo que se hidratan al inocularlos con la suspensión bacteriana pura. Las pruebas se clasifican en grupos; a cada uno de resultados positivos de los ensayos de se le asigna un determinado valor numérico, obteniéndose un código que corresponderá a un determinado género o especie en un texto de la base de datos (6).

Con fines de control microbiológico, la USP indica cuales son las pruebas bioquímicas mínimas que se requieren para la identificación de los microorganismos objetables, pero no descarta que se utilicen sistemas miniaturizados donde se realizan un número mayor de pruebas bioquímicas.

Existen muchas casas comerciales que producen sistemas miniaturizados para diferentes tipos de microorganismos además de las enterobacterias. Cada casa fabricante tiene su propia presentación, cálculos, manuales, etc.

Una limitación de este tipo de método de identificación es la aparición de cepas mutantes y la adquisición de plásmidos que pueden dar origen a cepas con características diferentes. Este tipo de método de identificación también ha sido desarrollado para la identificación de levaduras y de otros hongos (6).

d) Métodos basados en tipificación con fagos

La interacción entre un virus bacteriano (fago) y su célula bacteriana sensible es sumamente específica, ya que el proceso de adsorción se encuentra mediado por receptores específicos tanto en el virus como en la célula bacteriana. A una placa con medio de cultivo sólido inoculado con un cultivo puro de una determinada bacteria, se le añade una alícuota de un fago específico; éste puede ocasionar la lisis de las bacterias, hecho que se evidencia en el cultivo como zonas claras definidas, denominadas placas, que indican que hubo infección y lisis celular. El uso de fagos específicos permite identificar y subclasificar bacterias dentro de una misma especie (4).

e) Métodos basados en ensayos serológicos

Los métodos serológicos, implican la utilización de preparaciones de inmunoglobulinas específicas provenientes del suero o de un reactivo, y que pueden ser de gran utilidad en la identificación microbiana en muestras puras o en muestras biológicas. Cada uno de los métodos tiene su fundamento particular, pero en líneas generales, todos se basan en la reacción de un antígeno presente en el agente microbiano con su anticuerpo correspondiente. La solución que contiene los anticuerpos se denomina antisero (3, 4).

Estos métodos son muy útiles en diversas situaciones:

Si a través de un sistema miniaturizado basado en pruebas bioquímicas se determinó que la bacteria causante de la infección es un miembro del género

Salmonella, utilizando una batería de antisueros contra el antígeno O presente en el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas, es posible identificar a la *Salmonella* aislada hasta el nivel de serotipo (poli O, A, B, C, D, etc.).

La inmunofluorescencia ha resultado ser sumamente útil en casos de infecciones de diferente origen. Puede utilizarse para la identificación del microorganismo aislado o presente en una muestra biológica.

En el método directo se fija la muestra problema a una lámina y se pone en contacto con el antisuero específico marcado con una sustancia fluorescente (rodamina o fluoresceína).

Una vez transcurrido el tiempo para que tenga lugar la reacción antígeno anticuerpo, se expone la lámina a la radiación ultravioleta para visualizar la reacción. También existe la técnica indirecta, donde en primer lugar se utiliza el anticuerpo específico no marcado y posteriormente se utiliza un anticuerpo marcado (6).

f) Métodos basados en biología molecular

Modernamente adquiere más importancia el uso de métodos basados en biología molecular donde, a través de procedimientos y reactivos, se pueden detectar determinadas secuencias de ADN que son propias de un determinado agente microbiano (4, 5).

El método que se está utilizando ampliamente en los laboratorios de diagnóstico es el PCR (Polymerase Chain Reaction), que se aplica

generalmente para la identificación de microorganismos que no pueden ser cultivados por los métodos convencionales.

A través de este método, puede aumentarse la cantidad de ADN hasta niveles detectables mediante electroforesis o mediante sondas de ADN.

El proceso de PCR, puede resumirse en 4 etapas, que se repiten un n número de veces (4):

1. Separación de las cadenas de ADN, ello se realiza aumentando la temperatura, la cual rompe los enlaces de hidrógeno que mantiene unidos a las cadenas de ADN.
2. Adición de cadenas cortas de polinucleótidos, denominados cebadores, que se unen por complementariedad de bases a cada una de las cadenas del fragmento de ADN que se desea amplificar. Uno se une a la cadena 5' ---3' y otro a la cadena 3'—5'.
3. Disminución de la temperatura para permitir que los cebadores hibridicen con las cadenas de ADN de la muestra problema, por complementariedad de bases.
4. Adición de la ADN polimerasa, los cuatro nucleótidos (ATP, GTP, TTP, CTP) y demás cofactores, para que tenga lugar la síntesis de la cadena complementaria.
5. Repetición de las etapas 1 a 4. Este proceso se caracteriza por ser exponencial. En cada ciclo se duplica la región de ADN ubicada entre los cebadores. Este procedimiento se realiza en un equipo denominado termociclador, que permite regular las

diferentes temperaturas que se requieren para cada uno de los pasos.

A continuación se enumeran ejemplos de agentes microbianos subclasificados en bacterias, virus y protozoarios, que han sido identificados mediante PCR (4).

Bacterias:

Borrelia burghdoferi, Vibrio cholerae, Helicobacter pylori, Stahylococcus aureus, Chlamydea trachomatis, Shigella dysenteriae, Treponema pallidum, Escherichia coli enterotoxinogénica, Mycobacterium tuberculosis y Legionella pneumonophilia, Campylobacter jejuni.

Virus:

Parvovirus, Herpes-simplex virus, Rotavirus, Papillomavirus, Virus del dengue, Virus Varicella-Zoster, Virus de la Rubéola, Adenovirus, Rhinovirus.

Protozoarios:

Plasmodium falciparum, *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolyticum*, *Pneumocystis carinii*, *Trypanosoma cruzi*.

A continuación se presentan una lista con ejemplos de bacterias que han sido detectadas e identificadas por medio de sondas de ADN:

- **Bacterias gram negativas:** *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Haemophilus influenzae*.

- **Bacterias gram positivas:** *Streptococcus* Grupo A, *Streptococcus* Grupo B, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

- **Micobacterias:** *Mycobacterium tuberculosis*, *M. Avium*, *M. Intracelulare*.

- **Hongos:** *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*.

Siempre que sea posible se debe utilizar el método más eficiente y más barato.

Las identificaciones utilizando PCR son muy costosas debido a los equipos,

los reactivos y los materiales de laboratorio que se deben utilizar. El área donde se realiza una parte del ensayo sólo puede utilizarse para un determinado agente.

2.2. INFECCION Y TRANSMISION

Se denomina infección a la entrada de microorganismos dentro de los tejidos, sin producir necesariamente sintomatología o enfermedad; y transmisión es cualquier mecanismo en virtud del cual un agente infeccioso se propaga en el ambiente o de una persona a otra. Ésta puede ser de dos tipos:

- Transmisión directa: Es el traspaso directo e inmediato de un agente infeccioso a una puerta de entrada receptiva tal como piel, mucosa oral, mucosa nasal, conjuntivas o mucosas genitales; la cual puede ocurrir por contacto directo (tocar), proyección directa de gotitas de sangre, saliva o secreciones (hablar) y exposición al polvo contaminado (ropas, suelos contaminados).
- Transmisión indirecta: Es la transferencia de un agente infeccioso a un individuo susceptible a través de: vehículos de transmisión (objetos), por intermedio de un vector (interviene un insecto), aerosoles microbianos (los aerosoles son suspensiones aéreas de partículas constituidas parcial o totalmente por microorganismos).

La infección nosocomial se considera como adquirida en la comunidad si los signos y síntomas y los cultivos son positivos en las primeras 48 hora de la admisión. La infección es nosocomial si los signos, síntomas y cultivos son positivos después de las 48 a 72 horas de la admisión (5, 6).

2.3. BIOSEGURIDAD EN SALUD

Es necesario conocer las diferencias entre los métodos de descontaminación, debido a que cada uno de ellos se aplica teniendo en consideración el uso del material, ambiente o actividad médica a realizar; y es indispensable conocerlas, porque así se pueden prevenir infecciones (7).

Éstas son:

a. LIMPIEZA

Es la remoción mecánica de toda materia extraña en el ambiente, en superficies y en objetos, utilizando para ello el lavado manual o mecánico.

El propósito de la limpieza es disminuir la biocarga (número de microorganismos) a través del arrastre mecánico. Usualmente se utiliza agua y detergente para este proceso.

El propósito de la limpieza no es destruir o matar a los microorganismos que contaminan los objetos, sino de eliminarlos por arrastre.

b. DESINFECCIÓN

Se define como el proceso que elimina a los microorganismos patógenos que se encuentran en objetos inanimados, se efectúa mediante procedimientos que utilizan principalmente agentes químicos en estado líquido. El grado de desinfección producido depende de varios factores, pero esencialmente de la calidad y concentración del agente microbiano, de la naturaleza de la contaminación de los objetos y el tiempo de exposición. Algunos agentes de desinfección utilizados a la concentración

indicada y en período no inferior a 30 minutos producen la destrucción de los microorganismos, con la sola excepción de las esporas bacterianas resistentes (7).

Existen tres niveles de desinfección:

- De bajo nivel: Destruye bacterias patógenas en su forma vegetativa y algunos hongos, no elimina el *Mycobacterium tuberculosis* ni los virus de tamaño pequeño no lipídicos. Existen desinfectantes de nivel bajo que no destruyen las formas vegetativas de todas las bacterias. En este grupo están los amonios cuaternarios.
- De nivel intermedio: Destruye las formas vegetativas de bacterias, hongos y virus pero no necesariamente todos los virus de tamaño pequeño no lipídico. En circunstancias especiales puede eliminar el *M. tuberculosis*. Aquí se incluyen los compuestos clorados, los agentes iofóricos, los alcoholes y los fenoles.
- De alto nivel: Destruye todos los microorganismos incluyendo al *M. tuberculosis* y a los virus resistentes, pero no lo hace con todas las esporas bacterianas. Como ejemplo está el glutaraldehído, el orthophtaldehído, el peróxido de hidrógeno, el formaldehído y los productos basados en ácido paracético (7, 8).

b.1 MÉTODOS PRÁCTICOS DE DESINFECCIÓN

Es el más utilizado en nuestro sistema hospitalario y existen múltiples agentes germicidas en forma líquida.

Los principales desinfectantes utilizados en el ámbito hospitalario son: Orthophthaldehído, glutaraldehído, cloro y compuestos clorinados, formaldehído, peróxido de hidrógeno, ácido peracético, fenoles y amonio cuaternario. Es importante mencionar al respecto que no todos los desinfectantes están disponibles en nuestro medio.

b.1.1. ORTHOPHTHALDEHÍDO

Este agente químico es nuevo y se usa para la desinfección de alto nivel (DAN). Corresponde al grupo de aldehídos inorgánicos y contiene benzenecarbozaldehyde 1,2.

a. Mecanismo de acción: Su acción es por aniquilación de los componentes celulares y actúa directamente sobre los ácidos nucleicos.

b. Espectro: Los estudios han demostrado su excelente actividad microbicida y una mayor actividad frente a micobacterias que el glutaraldehído. Es micobactericida y virucida.

c. Ventajas y desventajas: La principal ventaja es que posee una excelente estabilidad en un amplio rango de pH (3 – 9) y por lo tanto no requiere de activación. Presenta además una excelente compatibilidad con cualquier material o artículo y cuenta con indicadores químicos. No es carcinogénico, pero se recomienda utilizarse en áreas ventiladas ya que todavía no se ha determinado si puede producirse irritación en los ojos y orificios nasales. Por ahora, el alto costo parece ser la desventaja principal para su uso.

d. Indicaciones de uso: el tiempo que se requiere para la desinfección de alto nivel varía según los siguientes estándares

- Estándar americano (FDA) (10 a 12 minutos a 20°C)
- Estándar en Canadá (10 min.)
- Estándar en Europa (5 min)
- En nuestro medio se recomienda utilizarlo 10 a 12 minutos.

e. Concentraciones de uso: Está indicado en una concentración del 0.55%. La solución tiene una duración de 14 días de reuso, y dos años de vida útil

b.1.2. GLUTARALDEHÍDO

Es un compuesto del aldehído y se presenta en soluciones acuosas, ácidos y alcalinos. Las soluciones ácidas no son esporicidas, pero utilizando un agente alcalinizante como activador este producto se torna esporicida. Tiene pH alcalino (activación) que sufre drástica disminución a partir de los 14 días de activación. Existen formulaciones que permiten producir una mayor vida útil por 28 días.

- a. **Mecanismo de acción:** Su acción es consecuencia de la alquilación de componentes celulares alterando la síntesis proteica de los ácidos ADN Y ARN.
- b. **Espectro:** Es bactericida, fungicida, virucida, micobactericida y esporicida.
- c. **Ventajas y desventajas:** No es corrosivo. Para DAN (45 minutos) a temperatura-ambiente tiene actividad germicida en presencia de materia orgánica. La gran desventaja del glutaraldehído es su toxicidad, ya que una vez activado suelen producir vapores irritantes para las mucosas, sistema respiratorio y la piel. Por ello, debe utilizarse en ambientes muy ventiladas y con protección personal. En la actualidad se han diseñado cabinas con las cuales se protege al operador de ese tipo de injurias.
- d. **Indicaciones de uso:** Está indicado para la DAN de endoscopios cuando la esterilización no es posible. También en el uso de artículos o materiales de metal como son los espejuelos, los

instrumentos otorrinológicos y odontológicos y las láminas de laringoscopio.

- f. Concentraciones de uso: En nuestro medio contamos con una solución al 2%. Se requiere de 45 minutos para hacer DAN a una temperatura de 20°C. Existen otras formulaciones de Glutaraldehído en concentraciones que varían entre 2.4% a 3.4%. En Europa existen concentraciones de 1.5% con tiempos mayores de inmersión.

El valor límite del umbral (VLU / valor de exposición) del glutaraldehído es de 0.2 ppm. a 0.05 ppm., en 8 horas de trabajo.

b.1.3. CLORO Y COMPUESTOS CLORADOS (15).

Los desinfectantes basados en el cloro generalmente están disponibles en forma líquida como hipoclorito de sodio (lejía), o sólida como hipoclorito de calcio (dicloroisocianurato de sodio).

- a. **Mecanismo de acción:** Su acción produce inhibición de las reacciones enzimáticas, desnaturalización de las proteínas e inactivación de los ácidos nucleicos.
- b. **Espectro:** Virucida, fungicida, bactericida (micobactericida).
- c. **Ventajas y desventajas:** Su acción es rápida, de bajo costo y de fácil manejo. Tiene propiedades desodorizantes y actividad microbicida atribuible al ácido hipocloroso no disociado.

La disociación de este ácido y por consiguiente la menor actividad depende del pH. Su eficiencia disminuye por el aumento del pH.

Su uso está limitado por su actividad corrosiva. Además se inactiva en presencia de materia orgánica, produce irritación de las mucosas, se polimeriza por los rayos de sol y necesita estar protegida en envases opacos. Las soluciones de cloro no deben conservarse en envases destapados por más de 12 horas debido a la evaporación del producto activo, haciendo que las concentraciones de cloro disponible disminuyan de 40% a 50%.

d. **Concentraciones de uso:** La concentración mínima para eliminar las microbacterias es de 1000 ppm. (0.1%) durante 10 minutos.

- La fórmula **R-12Q3** desarrollada con **Amina terciaria y Amonio cuaternario** de última generación carente de anillo bencénico, nos permite tener uno de los desinfectantes de alto nivel, más modernos y eficaces que existe, además de ser biodegradable.
- Una gran ventaja de la formulación R-12Q3 es que la Amina Terciaria y el Amonio Cuaternario NO son fijadores de proteínas a diferencia de los Aldehídos que reaccionan con estas (sangre y otras sustancias), lo que da lugar a su fijación en la superficie. La fijación de proteínas forma un biofilm que puede “proteger” los microorganismos que no son eliminados por el desinfectante siendo causa de formación de agentes patógenos, pudiendo ocasionar graves problemas intrahospitalarios.
- Efectiva acción tuberculicida en 10 minutos, muy superior a compuestos desarrollados con aldehídos. Limpia, desinfecta y desodoriza en un solo paso. La Amina terciaria es de gran éxito en

Europa debido a su gran poder desinfectante incluso en condiciones duras, su alto nivel de biodegradabilidad y su baja toxicidad en comparación a otros principios activos de alto nivel. Efectiva acción tuberculicida muy superior a compuestos desarrollados con aldehídos.

Excelente efectividad frente a Mycobacterium, esporas, bacterias Gram Positivas, Bacterias Gram negativas, levaduras, hongos, moho en 10 minutos.

Efectiva acción desodorizante, tiene una gran capacidad inhibitoria del desarrollo microbiano lo que impide la formación de productos malolientes de metabolismo, efectividad en amplio rango de pH, funciona mejor a bajas temperaturas que otros desinfectantes, mayor efectividad en presencia de materia orgánica que otros desinfectantes de alto nivel, alta tolerancia a aguas muy duras, fácil de trabajar y de retirar sin dejar mayor sustantividad residual en superficies, espuma suave y fácil de trabajar, buen efecto residual, no afecta las superficies.

Formulaciones desarrolladas con Amina Terciaria tienen mayores propiedades de limpieza e inferior nivel de corrosión que las desarrolladas con aldehídos u oxígeno activo además tienen mejor eficacia en condiciones sucias, con sólidos orgánicos y proteínas que formulaciones con ácido peracético o aldehídos.

Una gran ventaja de la formulación R-12Q3 es que la Amina Terciaria y el Amonio Cuaternario NO SON FIJADOR DE

PROTEÍNAS a diferencia de los Aldehídos que reaccionan con estas (sangre y otras sustancias), lo que da lugar a su fijación en la superficie. La fijación de proteínas forma un biofilm que puede “proteger” los microorganismos que no son eliminados por el desinfectante siendo causa de formación de agentes patógenos, pudiendo ocasionar graves problemas intrahospitalarios.

- Su versatilidad y gran dilución lo hacen una de las mejores alternativas en relación a costo beneficio. (19)
- De 1 litro se obtiene 500 litros de desinfectante con nivel biocida capaz de eliminar Mycobacterium, esporas, bacterias Gram Positiva, Bacterias Gram Negativas, levaduras, hongos y moho.
- En general debe utilizar la siguiente fórmula para calcular la cantidad de agua (y) o desinfectante (x) que debe emplear:
- Fórmula:

Cantidad de desinfectante a aplicar en una cantidad de agua

$$X = (2 * Y) \text{ mL de desinfectante}$$

Ejemplo:

Si deseo utilizar 10 litros (Y) de agua, ¿Cuántos litros de desinfectante requiero?

Respuesta

Reemplazar 10 (Y) en la primera fórmula se obtiene:

$$X = (2 * 10) \text{ mL de desinfectante}$$

$$X = 20 \text{ mL de desinfectante}$$

c. ESTERILIZACIÓN

Es el proceso mediante el cual se elimina de los objetos inanimados, todas las formas vivientes, con ella se logra destruir las formas vegetativas y esporas de los microorganismos, obteniéndose como consecuencia la protección antibacteriana de los instrumentos y materiales.

Constituye la medida esencial para la seguridad y la protección que demanda la atención de los pacientes. La esterilización se logra a través de:

- Vapor saturado a presión
- Calor seco
- Mediante algunos agentes químicos en forma líquida o e gas.

Es necesario saber que la limpieza es el procedimiento indispensable a realizar antes de llevar a cabo la desinfección o esterilización de los instrumentos (7).

Existe una clasificación para los instrumentos, equipos y espacios para su descontaminación, la cual se divide en:

– INVASIVOS

Características. Penetran tejidos y producen sangrado.

Descontaminación. Esterilización en autoclave, estufa o descartar.

– NO INVASIVOS

Características. Entran en contacto con mucosas, dentina y esmalte y no producen sangrado.

Descontaminación. Esterilización o desinfección de alto nivel y nivel intermedio.

– AMBIENTALES

Características. Solamente entran en contacto con la piel.

Descontaminación. Desinfección de nivel medio y bajo nivel.

En 1997, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), publicó que 17 millones de personas a nivel mundial fueron víctimas de infecciones intrahospitalarias en 1995, como consecuencia de un abandono a los programas de vigilancia sanitaria y a la reducción de investigaciones hacia programas sanitarios básicos; además dicha organización alertó que más de 250,000 niños, menores de 5 años de edad, mueren anualmente en las Américas, por enfermedades que podrían haber sido fácilmente prevenidas o tratadas (9, 10).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), agencias nacionales e internacionales y organizaciones no gubernamentales (ONGs) esperaban prevenir 100,000 muertes de niños menores de 5 años de edad (de un promedio anual de 250,000) en las Américas en el 2002, promoviendo el entrenamiento de profesionales en salud, calidad del sistema de salud requerido para un efectivo manejo de las enfermedades en niños, familias y prácticas de la comunidad.

Los esfuerzos de disminuir el riesgo de transmisión de infecciones incluyen programas en los cuales estas infecciones tienen un rol crucial.

Las superficies de los servicios médicos de los hospitales, la piel del personal, equipamiento, muebles, y áreas deben de ser desinfectadas mediante un apropiado agente desinfectante (11)

2.4. INFECCIONES NOSOCOMIALES Y BACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS.

- **INFECCIONES NOSOCOMIALES**

Infección contraída en el hospital por un paciente internado por una razón distinta de esa infección.

Una infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del internado, y se manifiestan después del alta hospitalaria.

Las infecciones nosocomiales más frecuentes son las de heridas quirúrgicas, las vías urinarias y las vías respiratorias inferiores. En el estudio de la OMS y en otros se ha demostrado también que la máxima prevalencia de infecciones nosocomiales ocurre en unidades de cuidados intensivos y en pabellones quirúrgicos y ortopédicos de atención de enfermedades agudas. Las tasas de prevalencia de infección son mayores en pacientes con mayor vulnerabilidad por causa de edad avanzada, enfermedad subyacente o quimioterapia (6).

- **BACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS**

Las bacterias patógenas son una de las principales causas de las enfermedades y de la mortalidad humana, causando infecciones tales como tétanos, fiebre tifoidea, difteria, sífilis, cólera, intoxicaciones alimentarias, lepra y tuberculosis. Puede ocurrir que, para una enfermedad médicamente conocida, su causa patogénica se descubra solamente después de muchos años, como fue el caso de la úlcera péptica y *Helicobacter pylori*. Las enfermedades bacterianas son también importantes en la agricultura y en la ganadería, por ejemplo, el carbunco.

Cada especie de patógeno tiene un espectro característico de interacciones con sus huéspedes humanos. Algunos organismos, tales como los *Staphylococcus* sp. o *Streptococcus* sp., pueden causar

infecciones de la piel, pulmonía, meningitis e incluso sepsis, una respuesta inflamatoria sistémica que produce shock, vasodilatación masiva y muerte.

Sin embargo, estos organismos son también parte de la flora humana normal y se encuentran generalmente en la piel o nariz sin causar ninguna enfermedad.

Ciertas especies tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cenocepacia* y *Mycobacterium avium* son patógenos oportunistas y causan enfermedades principalmente en las personas que sufren inmunosupresión o fibrosis quística.

Los instrumentos quirúrgicos y dentales también son esterilizados para prevenir la contaminación e infección por bacterias. Los desinfectantes se utilizan para matar a bacterias u otros patógenos que se depositan sobre las

superficies para prevenir la contaminación y reducir el riesgo de infección (11, 13).

2.5. BACTERIAS FRECUENTES EN ÁREAS CLÍNICAS

- ***Pseudomonas* sp.**

Género *Pseudomonas*, grupo de bacilos Gram negativos aerobios estrictos, que crecen bien en los medios habituales en 24 horas y que se encuentran en abundancia en las plantas y en el ambiente, denominados colectivamente bacilos gramnegativos no fermentadores.

Producen infecciones oportunistas, tales como neumonía, infección urinaria, infecciones quirúrgicas y septicemia entre otros. Con frecuencia, alguna cepa se establece de modo endémico en un hospital dando lugar a hiperendemias o epidemias. Presentan gran resistencia a los antimicrobianos.

Muchos ambientes de cirugía presentan un alto nivel de biocontaminación, debido a un inapropiado mantenimiento y desinfección, lo cual causa la colonización de diversas bacterias, siendo la *P. aeruginosa* una de las más frecuentemente encontradas.

Además, *P. aeruginosa* puede elevar la presencia de *Legionella* sp. Así pues, incluso si el recuento total de bacterias, no siempre representa un riesgo para el paciente y la salud de los trabajadores, la presencia de un patógeno oportunista como *P. aeruginosa*, podría ser peligrosa, especialmente cuando está asociada a otros microorganismos con predilección por habitantes en agua (e.g., *Legionella* y *Aeromonas* sp.).

La *Pseudomona aeruginosa* es un frecuente patógeno nosocomial que causa severas enfermedades en muchos casos, particularmente en pacientes comprometidos, incluyendo aquellos con cáncer, quemaduras, y fibrosis quística. Las infecciones son frecuentemente severas, y dos recientes estudios indican que la tasa de mortalidad atribuido a bacteremia por *P. aeruginosa* es aproximadamente del 34%. Muchos factores de virulencia pueden ser atribuidos a su patogenicidad, incluyendo formación de biofilm y la expresión de los adhesivos, endotoxinas y exotoxinas hidrolíticas, los cuales causan destrucción tisular (6).

- **Staphylococcus aureus**

Género *Staphylococcus*, cocos Gram positivos agrupados habitualmente en racimos aerobios y anaerobios facultativos. Sólo *S. aureus* produce la enzima coagulasa, por lo que las demás especies se conocen como coagulasa – negativas.

S. aureus y *S. epidermidis* parecen ser, en principio, las únicas que se aíslan en la cavidad oral y, aunque tienen el carácter de pertenecer a la microbiota transitoria, están implicadas en numerosos procesos patológicos en esta zona. Ambas especies, por su capacidad de soportar elevadas concentraciones de NaCl, están ampliamente distribuidas en la naturaleza como saprófitas y comensales de la piel y numerosas mucosas (p.ejm nasofaringe o intestino).

- **Fisiopatología y casos clínicos:**

En principio, la característica fundamental es la acumulación de pus. La puerta de entrada suele ser la cutáneo-mucosa, a partir de cepas resistentes o adquiridas que colonizan los tejidos por adhesinas como los ácidos teicoicos y la capa mucosa; si existen factores predisponentes, *S. aureus* inicia su acción patógena con una secuencia de acontecimientos.

Las manifestaciones clínicas son: primarias purulentas, bacteriemias y secundarias purulentas.

- **Acinetobacter sp.**

El género *Acinetobacter* está formado por cocobacilos (con forma de bastón corto y grueso) Gram negativos, oxidasa negativos, inmóviles.

Dada la complejidad de la nomenclatura de especies y biovariedades individuales, algunos sistemas de clasificación utilizan la expresión «complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*», que abarca todos los subgrupos pertenecientes a esta especie, como *A. baumannii*, *A. iwoffii* y *A. junii*.

La *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* son las dos especies aisladas con mayor frecuencia en clínica.

d. Estudios microbiológicos de superficies quirúrgicas de clínicas odontológicas.

En la búsqueda de mejorar la salud bucal poblacional; muchas clínicas odontológicas se ven en el deber de investigar acerca de cómo mantener un adecuado ambiente clínico según lineamientos internacionales, debido a que ciertas limitaciones incrementan la posibilidad de acumular microorganismos potencialmente patógenos que pueden comprometer el resultado final del tratamiento odontológico y/u ocasionar problemas subyacentes.

Existen evidencias de la presencia de bacterias en madera, plástico y acero inoxidable, Rodríguez y col. en su estudio compararon la contaminación bacteriana en un quirófano de uso dental, según tipos de superficie; las cuales fueron: madera, plástico y acero inoxidable; ; los resultados fueron que un tercio de las muestras tomadas de la madera y un tercio de las muestras tomadas del plástico estaban contaminadas; mientras que solo el 10% de las muestras obtenidas de la madera estaban contaminadas.

Esto nos indica que la madera es un medio hostil para las bacterias.

Al evaluarse la carga bacteriana y la presencia de patógenos como *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Acinetobacter sp*; en un ambiente quirúrgico dental, y obtener cargas bacterianas elevadas, nos indica un ambiente inadecuado para. actividades quirúrgicas, debido a deficiencias en las normas de desinfección ambiental manejadas; por lo que refleja

la necesidad de implementar programas de monitoreo bacteriológico del ambiente en áreas clínicas odontológicas (12).

2.6. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA EN EL DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO CONTRA TAXONOMÍA

El aislamiento e identificación de las bacterias procedentes de pacientes es un apoyo al tratamiento ya que enfermedades infecciosas causadas por bacterias distintas, presentan diferentes cuadros clínicos y consecuencias. Las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos (por ejemplo, el establecimiento de la concentración o mínima inhibitoria o MIC), en aislamientos microbianos particulares, puede ayudar en la selección de los antibióticos útiles en la terapia. El reconocer que ciertas especies (o cepas) están siendo aislados en forma atípica, puede sugerir que ha ocurrido un brote de enfermedad nosocomial (hospitalaria), por ejemplo, surgido a partir de instrumentos de hospital contaminados o debido a una mala técnica de asepsia, por parte del personal.

Cuando se sospecha que un paciente tiene una infección bacteriana, es común que se lleve a cabo el aislamiento de colonias del microorganismo en cultivo puro (observables a simple vista en placas de agar) para luego tipificarlo. La identificación o tipificación se basa en principios taxonómicos básicos aplicados a la microbiología clínica. En el diagnóstico de laboratorio, cada día se deben caracterizar numerosas muestras y los resultados se deben obtener tan pronto como sea posible. Las pruebas deben leerse y realizarse fácilmente y además deben ser de bajo costo. Los métodos clásicos para la tipificación de las bacterias están basados en características

morfológicas y metabólicas. Las pruebas diagnósticas se han seleccionado con base en que empíricamente, proveen información suficiente para hacer posible la discriminación entre las especies. Existen numerosas pruebas con resultados diferentes para cada uno de los patógenos objetivo. Adicionalmente, hoy en día las técnicas de biología molecular (basadas en la caracterización de genes específicos o segmentos de ellos) son más comunes en el laboratorio clínico (14).

Los enfoques de la taxonomía moderna a menudo emplean metodologías técnicas más complejas y se interesan por el perfil de la composición estructural de la bacteria, esto involucra aproximaciones basadas en "biología molecular" o "química analítica". Al día de hoy se reconoce que muchos de los esquemas clásicos para la diferenciación de las bacterias muestran muy poco enfoque en sus relaciones genéticas y algunas veces sus resultados son científicamente diferentes. La información más reciente ha dado como resultado en una re-designación de ciertas especies bacterianas y algunas veces se ha requerido reorganizar totalmente las relaciones entre las familias y aún al interior de muchas familias bacterianas (4).

2.6.1. Términos taxonómicos (clasificación) (3)

- Familia: un grupo de géneros relacionados.
- Género: un grupo de la especies relacionadas.
- Especie: un grupo de cepas relacionadas.
- Tipo: los grupos de cepas dentro de las especies (por ejemplo. biotipos, serotipos).
- Cepa: aislamiento de una especie en particular.

El término más comúnmente utilizado, es el nombre de las especies (por ejemplo. *Streptococcus pyogenes* - abreviatura *S. pyogenes*). Hay siempre dos partes del nombre de la especie, uno definirá el género en este caso "*Streptococcus*" y la otra parte definirá la especie (en este caso "*pyogenes*"). El nombre del género siempre se escribe con mayúscula y el nombre de la especie no. Ambos, la especie y el género se subrayan o se escriben en itálicas.

2.6.2. La tinción de Gram

Un toque del asa sobre la colonia bacteriana se debe disolver sobre una gota de agua y extender como una capa fina sobre un portaobjetos. Se deja secar la preparación, se fija al calor suave y se trata como sigue:

- Paso 1. Tinción con cristal violeta.
- Paso 2. Fijación con una solución de yodo. Estabiliza el cristal violeta, todas las bacterias en la preparación permanecen de color púrpura o azul.
- Paso 3. Extracción con alcohol u otro solvente. Decolora algunas bacterias (las Gram negativas) y no otras (las Gram positivas).
- Paso 4. Tinción de contraste con safranina. Las bacterias gram positivas ya están teñidas con cristal violeta y permanecen de color púrpura. Las bacterias gram negativas se tiñen de color rosa.

A continuación la apariencia de las bacterias se observa bajo el microscopio. Las preguntas que se deben hacer incluyen:

- ¿Se trata de bacterias gram positivas o negativas?

- ¿Cuál es la morfología (bastones, cocos, espirales, pleomórficas [forma variable], etc.)?
- ¿Aparecen las células en forma separada o formando cadenas, racimos, pares, etc.? y
- ¿De que tamaño son las células?

Aparte de la tinción de Gram, hay otras tinciones disponibles que son menos empleadas (por ejemplo tinciones para esporas y cápsulas).

De la placa de aislamiento primario se toma otra colonia similar y luego se examinan las propiedades bioquímicas; por ejemplo, ¿fermentara la bacteria un azúcar, por ejemplo la lactosa? Algunas veces, las bacterias se identifican (por ejemplo: por aglutinación) con anticuerpos disponibles comercialmente que reconocen antígenos definidos en la superficie de la bacteria. Ya están disponibles y son actualmente usadas otro tipo de pruebas de diagnóstico molecular (3).

2.6.3. Caracterización taxonómica de bacterias

Existe una diversidad considerable aún incluso dentro de las especies. Por lo tanto la comparación de las especies para establecer una separación taxonómica, implica la comparación de múltiples cepas por cada especie en cuestión. Dichas comparaciones están basadas principalmente en análisis químico o molecular (4).

Análisis químico

Se dispone de herramientas sofisticadas para el estudio de la composición estructural de las bacterias (comúnmente ácidos grasos, carbohidratos o perfil de ubiquinona). La caracterización de los productos metabólicos secretados (por ejemplo alcoholes volátiles y ácidos grasos de cadena corta) es también muy útil en la taxonomía.

Análisis molecular

La comparación de las secuencias del DNA cromosomal bacteriano completo sería lo ideal, pero esto no es factible hacerlo en todos los casos. Millones de nucleótidos tendrían que ser secuenciados por cada cepa. En años anteriores, se ha llevado a cabo la secuenciación de genomas enteros de un solo representante, de unas pocas especies bacterianas (por ejemplo una cepa). En cada caso, esto involucraría cantidades masivas de trabajo, realizadas por grandes grupos de investigación dedicados a la tarea de secuenciación. Alternativamente, la semejanza genómica históricamente se ha determinado por el contenido de guanina (G) más citosina (C), expresado comúnmente como un porcentaje (% de GC). Esto ha sido reemplazado por dos alternativas mas confiables – la hibridación y la secuenciación de genes en particular, (comúnmente se usa el gen que codifica para el rRNA 16S).

La homología de DNA-DNA (o qué tanto pueden unirse [hibridizar] dos cadenas de DNA de diferentes bacterias) se emplea para comparar las relaciones genéticas de las cepas/especies bacterianas. Si el DNA de dos cepas bacterianas muestra un alto grado de homología (es decir las cadenas se unen muy bien) se considera que estas cepas son miembros de la misma especie. El DNA de especies

bacterianas diferentes (a menos que tenga relación taxonómica muy cercana) no muestra homología.

En los últimos años, la secuenciación de las moléculas del RNA ribosomal 16S (rRNA 16S) se han convertido en el "estándar de oro" de la taxonomía bacteriana. La molécula tiene aproximadamente mil seiscientos nucleótidos de longitud. La secuencia del rRNA 16S provee una medida de la semejanza genómica, sobre la base de que permite hacer comparaciones de parentesco entre especies de todo el reino bacteriano. Las especies bacterianas cercanamente relacionadas a menudo tienen secuencias de rRNA idénticas. Por lo tanto, esta técnica proporciona información complementaria a la hibridación DNA-DNA. La determinación de la secuencia de los genes de rRNA 16S y otras regiones genéticas se usan en la identificación en el laboratorio de microbiología clínica (3, 4).

2.6.4. Diagnóstico rápido en ausencia de cultivo previo.

Ciertos patógenos de humanos (incluyendo el agente causal de la tuberculosis, de la enfermedad de Lyme y la sífilis) no pueden ser aislados en el laboratorio o crecen extremadamente poco. Un aislamiento exitoso puede ser lento y en algunos casos imposible. Afortunadamente la detección directa de las bacterias sin cultivarlas es posible en algunos de estos casos.

Un acercamiento simple al diagnóstico rápido (como ejemplo: la detección de antígeno) se usa en muchos consultorios médicos para determinación del grupo A de estreptococo. Se toma la muestra con un hisopo a partir de la garganta del paciente y

se aglutina el exudado en ausencia de cultivo bacteriano. El antígeno bacteriano se detecta (por aglutinación) con partículas de látex cubiertas con anticuerpos específicos.

Las secuencias específicas de DNA se pueden amplificar directamente a partir de fluidos humanos (por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, PCR). De esta forma se generan cantidades amplificadas de genes específicos o de porciones de genes y estos pueden ser rápidamente detectados. De esta forma se ha conseguido éxito en el diagnóstico rápido, por ejemplo, de la tuberculosis.

Finalmente, la observación directa al microscopio de ciertas muestras para observar la presencia de bacterias puede ser muy útil (por ejemplo, la detección de *M. tuberculosis* en esputo mediante una tinción para microorganismos ácido-alcohol resistentes).

La identificación de la respuesta de anticuerpos en el suero del paciente (perfil serológico) contra el agente infeccioso, solamente puede ser útil después de algunas semanas después de que la infección ha ocurrido (6).

3. ANALISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

3.1. A nivel internacional

Autor: Berganza I. (13)

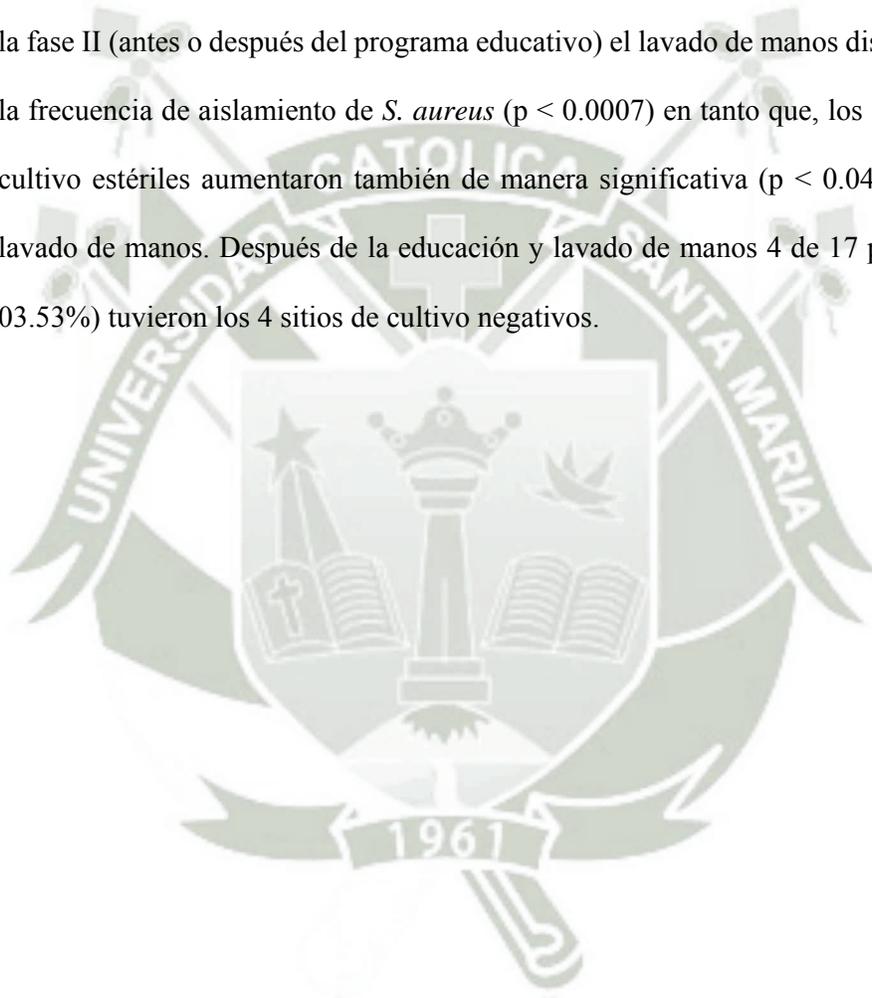
Título: Microbiota predominante en manos y uñas de cirujanos y personal paramédico de las áreas de cirugía, recién nacidos y postparto en un Hospital nacional de Guatemala.

Fuente: Tesis de grado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala, 2003.

Resumen: El presente estudio se desarrolló en el Hospital Nacional de Chimaltenango, investigando el impacto que tiene el lavado de manos en personal, médico y paramédico que trabaja regularmente en ese hospital, con respecto a las bacterias que pueden presentar enfermedades nosocomiales. Se estudiaron 17 personas (8 médicos, 8 enfermeras y un individuo del personal de apoyo), que pertenecían a las secciones de sala de operaciones, pediatría y recién nacidos. La participación fue por consentimiento consensuado, las muestras de manos y uñas se analizaron en el laboratorio del hospital. Los medios de cultivo empleados fueron Agar Sangre de Carnero y Agar MacConkey que se incubaron durante 48 horas. La identificación de las bacterias aisladas, se efectuó de acuerdo a los estándares internacionales. Se obtuvieron 544 cultivos, a cada individuo se le cultivó cada mano y las uñas. El estudio consistió de dos fases (I y II) y cada fase tenía dos etapas, antes y después de lavarse las manos y uñas. La primera fase se realizó sin ninguna instrucción y la segunda con un plan educacional coordinado. En la primera fase, se obtuvieron 272 cultivos de los cuales 136 fueron positivos. Las bacterias residentes aisladas antes de lavarse las manos fueron:

Staphylococcus epidermidis, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*; las bacterias transitorias: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y las enterobacterias potencialmente patológicas fueron: *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Es importante anotar que varias de ellas son causantes de infecciones nosocomiales. En la primera fase, primera etapa, el estudio se efectuó sorpresivamente y de las cuatro oportunidades de análisis que efectuamos, fue en donde se obtuvo mayores cultivos positivos, 76 de 136 (55.88%). En la primera fase segunda etapa, es decir luego de lavarse las manos, se detectaron 60 de 136 (44.12%), se aislaron nuevamente las bacterias residentes *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* y las bacterias transitorias *Bacillus cereus*: desapareciendo las enterobacterias, lo que demuestra que el lavado no esteriliza totalmente las manos y uñas de cirujanos y personal de enfermería. Entre la fase I y la fase II desarrollamos un plan educacional, el cual consistió en charlas, películas, afiches. lavado de camillas, paredes y' pisos efectuándose asepsia y antisepsia de los mismos: aunado a ello, se puso en práctica una demostración de lavado de manos y cepillado de uñas. Fueron invitados 21 sujetos, de los cuales 3 no estuvieron anuentes a recibir esta capacitación. En la segunda fase, primera etapa detectamos 62 cultivos positivos de 136 (45.59%), se encontró de nuevo: a) microbiota residente: *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* y b) microbiota transitoria: *Bacillus cereus*, en manos y uñas del personal hospitalario. En la segunda fase, segunda etapa, luego de lavarse las manos, obtuvimos 45 cultivos positivos de 136 (33.08%), todas estas diferencias fueron significativas con análisis de χ^2 con corrección de Yates. Estos resultados, permiten inferir que el lavado de manos y uñas tiene efectos positivos

en el desaparecimiento de las bacterias patógenas, es decir logran la asepsia, aunque no la total esterilidad. La razón podría explicarse por el tiempo dedicado al lavado de manos y uñas, el jabón que utilizan, y las toallas de papel desechables, que en ocasiones contenían contaminantes del ambiente como *B. corona* y *Bacillus subtilis*. Además, el plan educacional no tuvo un impacto positivo en los resultados de cultivo de manos. Es de hacer notar que tanto en la fase I como en la fase II (antes o después del programa educativo) el lavado de manos disminuyó la frecuencia de aislamiento de *S. aureus* ($p < 0.0007$) en tanto que, los sitios de cultivo estériles aumentaron también de manera significativa ($p < 0.04$) con el lavado de manos. Después de la educación y lavado de manos 4 de 17 personas (23.53%) tuvieron los 4 sitios de cultivo negativos.



4. Objetivos.

4.1. General

Describir el resultado del monitoreo e identificación de agentes bacteriológicos en campo de sala de operaciones de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.

4.2. Específicos

- 1) Conocer la frecuencia de crecimiento bacteriano en superficies de sala de operaciones de diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.
- 2) Identificar los principales gérmenes que crecen en estas superficies en los diferentes centros quirúrgicos de Lima y Arequipa.

5. Hipótesis

No se requiere por tratarse de un estudio observacional descriptivo.

III. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación

Técnicas: En la presente investigación se aplicará la técnica de la identificación microbiológica por tinción Gram y la identificación bioquímica de especie.

Instrumentos: El instrumento que se utilizará consistirá en una ficha de recolección de datos (Anexo 1).

Materiales:

- Fichas de investigación
- Material de escritorio
- Material de toma de muestras: hisopos, caldo enriquecedor, tubos de ensayo.
- Computadora personal con programas de procesamiento de textos, bases de datos y estadísticos.

2. Campo de verificación

2.1. Ubicación espacial: La presente investigación se realizará en diferentes hospitales y clínicas que cuentan con centro quirúrgico en la ciudad de Lima y Arequipa

2.2. Ubicación temporal: El estudio se realizará en forma coyuntural en el mes de Diciembre 2012.

2.3. Unidades de estudio: Muestras microbiológicas tomadas de superficies de Sala de Operaciones de los establecimientos de estudio.

2.4. Población: Veintidos muestras microbiológicas tomadas de superficies de Sala de

Operaciones de los establecimientos de estudio, distribuidas de la siguiente manera:

- Hospital Nacional IV Dos de Mayo (Lima) 10 muestras
 - Hospital Nacional IV Carlos A. Seguín Escobedo 8 muestras
- Essalud (Arequipa):
- Hospital Nacional III Goyeneche (Arequipa): 3 muestras
 - Hospital Policial II My Julio Pinto Manrique (Arequipa) 1 muestra

3. Estrategia de Recolección de datos

3.1. Organización

Se realizarán las coordinaciones con la dirección de los diferentes hospitales y clínicas de estudio para obtener la autorización para acceder a los ambientes quirúrgicos.

Se accederá a las salas quirúrgicas de manera estéril para tomar muestras de superficies antes de la realización de cirugías. Se realizará la toma de muestra bajo el procedimiento de hisopado, el cual consiste en frotar un hisopo (aplicador de madera u otro material con algodón), humedecido con caldo de urea de Stuart en un área determinada. Previamente se calza bata, cofia, cubreboca y guantes estériles, luego con el hisopo inclinado en un ángulo aproximado de 30° frotar 3 veces, cada una en dirección opuesta (en sentido vertical, horizontal y diagonal, aplicando la mayor presión posible) sobre el campo de operaciones que está conformado por la mesa de mayo, superficie cercana al campo de aproximadamente 50 cm² (5 cm x 10 cm ó 2 cm x 25 cm.). Regresar el hisopo al

tubo y romper la parte que estuvo en contacto con los dedos. Asegurarse que el tubo esté bien cerrado para evitar derrames de líquido o una posible contaminación. Las muestras recolectadas serán remitidas a un laboratorio microbiológico para la tinción de Gram y la identificación bioquímica bajo técnica estándar.

Una vez concluida la recolección de datos, éstos serán organizados en bases de datos para su posterior interpretación y análisis.

3.2. Recursos

a) Humanos

- Investigador,
- Asesor
- Microbiólogo

b) Materiales

- Fichas de investigación
- Material de escritorio
- Material para toma de muestra: hisopos, caldo enriquecedor, tubos de ensayo.
- Computadora personal con programas procesadores de texto, bases de datos y software estadístico.

c) Financieros

- Autofinanciado

3.3. Validación de los instrumentos

No se requiere de validación por tratarse de un instrumento para recoger información.

3.4. Criterios para manejo de resultados

a) Plan de Procesamiento

Los datos registrados en el Anexo 1 serán luego codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

b) Plan de Clasificación:

Se empleará una matriz de sistematización de datos en la que se transcribieron los datos obtenidos en cada Ficha para facilitar su uso. La matriz fue diseñada en una hoja de cálculo electrónica (Excel 2010).

c) Plan de Codificación:

Se procederá a la codificación de los datos que contenían indicadores en la escala continua y categórica para facilitar el ingreso de datos.

d) Plan de Recuento.

El recuento de los datos será electrónico, en base a la matriz diseñada en la hoja de cálculo.

e) Plan de análisis

Se empleará estadística descriptiva con distribución de frecuencias (absolutas y relativas), medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (rango, desviación estándar) para variables continuas; las variables categóricas se presentarán como proporciones. Para el análisis de datos se empleará la hoja

de cálculo de Excel 2010 con su complemento analítico y el paquete SPSS
v.19.0.

IV. Cronograma de Trabajo

Actividades	Noviembre 12				Diciembre 12				Enero 13			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Elección del tema	■											
2. Revisión bibliográfica		■										
3. Aprobación del proyecto			■	■								
4. Ejecución					■	■	■	■				
5. Análisis e interpretación									■			
6. Informe final										■		

Fecha de inicio: 01 de Noviembre 2012

Fecha probable de término: 10 de Enero 2013