

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
VICE RECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POST GRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
MAESTRÍA EN MICROBIOLOGIA AMBIENTAL**

Determinación de la Contaminación de Bacterias Gramnegativas en los Laboratorios de Microbiología y Tecnología Médica de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí, de marzo a julio de 2016.

**ALEXIS ALBERTO UREÑA FRANCO
4-723-2112**

**ASESORES
DR ORLANDO CÀCERES
MGTR. LUIS GONZALEZ**

**Tesis de Maestría para optar por el
Titulo de Maestría en Microbiología
Ambiental**

2017

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi esposa Dionisia Acosta y mi hijo Alexis Andrés, a quienes han sido mi inspiración, mi fuerza para luchar y seguir adelante por esta gran meta, a mis padres, María y Alexis que hicieron de mí un hombre de bien y por toda la confianza depositada en mí y por todos los sabios consejos que me brindaron.

A mi hermana Yínny por su apoyo y palabras de aliento que en todo momento me ofreció. A mi Dios, Todopoderoso, por la vida, el ánimo, por darme las fuerzas necesarias para realizar este gran sueño, también por darme la fortaleza espiritual y física para culminar con éxitos mis estudios y ser el profesional que soy.

Alexis

AGRADECIMIENTO

De manera especial, al Dr. Orlando Cáceres, al MSC. Luis González, por su sabia dirección, comprensión y enseñanzas brindadas a lo largo de este trabajo de investigación.

A la Licda. Daira Icaza por su tiempo y orientación en el momento de la preparación y procesamiento de las muestras. A todas las personas que de una u otra forma han hecho posible la realización de esta tesis de maestría, mi más profundo agradecimiento. A todos mis familiares quienes con sus consejos y apoyo me indujeron siempre a la culminación de esta maestría

Alexis

INDICE

CAPITULO I MARCO INTRODUCTORIO.....	3
INTRODUCCIÓN	3
1.1 ASPECTOS GENERALES DEL PROBLEMA.....	7
1.1.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	7
1.1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	8
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	8
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
1.4 ALCANCES DEL TRABAJO.....	9
1.5 LIMITACIONES	9
1.6 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA.	10
CAPITULO II MARCO TEORICO	12
2.1 LOS MICROORGANISMOS EN EL MEDIO AMBIENTE.	12
2.2 IMPACTO DE LA MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL.....	13
2.3 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGÍA.....	15
2.4 BACTERIAS GRAMNEGATIVAS	18
2.4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE UNA BACTERIA.	21
2.4.2 MECANISMO DE RESISTENCIA BACTERIANO.	24
2.4.3. TIPOS DE MECANISMO DE RESISTENCIA.	24
2.5 PATOGENIA DE LA INFECCIÓN BACTERIANA.....	28
2.6 LAS ENTEROBACTERIÁCEAS	31
2.7 AGENTES ANTIBACTERIANOS.....	32
2.8 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA	34
CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODO.	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	36

3.1 AMBITO DE ESTUDIO	36
3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN	36
3.3 CULTIVO Y PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS.....	36
3.4 IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS.....	39
3.4.1 TINCIÓN DE MUESTRA.....	39
3.4.2 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE SISTEMA VITEK.....	40
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION	47
4.1 CULTIVOS POSITIVOS	48
4.2 SITIOS DE MUESTREO.....	49
4.3 SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS	51
CAPITULO V CONSIDERACIONES FINALES	53
5.1 CONCLUSIONES	53
5.2 RECOMENDACIONES.....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	55
ANEXOS	62

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de la pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativos.....	19
Figura 2. Mecanismo de Resistencia Antimicrobiana.....	26
Figura 3. Los desconocimientos de las normas de bioseguridad dentro de los laboratorios, pueden causar efectos nocivos en los seres humanos.....	30
Figura 4. Estructura del género Enterobacteriaceae.....	31
Figura 5. Localizaciones de infección por las enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia.....	34
Figura 6. Cultivos positivos y negativos del medio líquido.....	38
Figura 7. Pase a otros Mac Conkey para tener colonias puras y aisladas.....	38
Figura 8. Tinción de GRAM, bacilos gramnegativos.....	40
Figura 9. Analizador Automatizado microbiológica VITEK 2 Compact.....	41
Figura 10. Tarjetas de identificación y sensibilidad del Vitek.....	42
Figura 11. Reporte de identificación y sensibilidad del Vitek.....	44
Figura 12. Opciones de reportes del equipo automatizado Vitek (Puntos de cortes de la CMI).....	45
Figura 13. Opciones de reportes del equipo automatizado Vitek. (Alarmas de los mecanismos de resistencias).....	46
Figura 14. Lectura de los platos, en la cámara.....	62
Figura 15. Realizando los pases de pureza de los platos positivos.....	63
Figura 16. Tioglicolato positivos y negativos.....	64
Figura 17. Rotulando las muestras sembradas en los platos.....	64

RESUMEN

Los microorganismos son seres vivos, que solo pueden visualizarse con el microscopio, estos pueden causar efectos en la salud humana y se pueden transmitir de una persona a otra a través de las manos, fluidos o una mala práctica de higiene. Los podemos encontrar en superficies sólidas (mesa de trabajo, perillas de puertas, etc), en la ropa (bata de laboratorio) manos y guantes, en el aire, etc. Es importante su identificación porque pueden ser contaminantes y contagiosos, provocando patologías en humanos. El lavado de manos es un elemento importante en el control de la transmisión, contaminación e infecciones, provocada por estos agentes. Se identificaron bacterias gramnegativas y se determinaron sus patrones de sensibilidad. Se utilizaron equipos y pruebas automatizadas de alta sensibilidad y especificidad, para la identificación de especies patógenas u oportunistas y se determinó su sensibilidad, de acuerdo al método de Kirbi Bauer. Se logró identificar especies de: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* y *Pseudomona*, las cuales mostraron sensibilidad a la Ceftriaxona, Ampicilina, Ciprofloxacino y siendo resistente a la Amoxicilina con Ácido Glabulánico en un bajo porcentaje. Se determinaron áreas contaminadas con microorganismos que pueden afectar la salud de los que utilizan estas áreas de investigación. El inadecuado desarrollo o práctica de laboratorio en estos lugares contaminados, puede convertirse en un potencial contaminante que puede llevar a un proceso invasivo y afectar la bioseguridad del personal que allí labora. Se deben implementar normas de bioseguridad y de manejo de muestras infectocontagiosas para evitar riesgo laborales.

Palabras claves: Microbiología, ambiente, microorganismo, higiene, bioseguridad

ABSTRACT.

Microorganisms are living beings, which can only be visualized under a microscope, they can have effects on human health and can be transmitted from one person to another through hands, fluids or poor hygiene practice. We can find them on solid surfaces (work table, door knobs, etc.), on the clothes (lab coat) hands and gloves, in the air, etc. Identification is important because they can be contaminating and contagious, causing pathologies in humans. Hand washing is an important element in the control of the transmission, contamination and infections, caused by these agents. Gram-negative bacteria were identified and their sensitivity patterns were determined. Automated equipment and tests of high sensitivity and specificity were used for the identification of pathogenic or opportunistic species and their sensitivity was determined according to the Kirbi Bauer method. It was possible to identify species of *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* and *Pseudomona*, which showed sensitivity to Ceftriaxone, Ampicillin, Ciprofloxacin and being resistant to Amoxicillin with Glabulanic acid in a low percentage. Areas contaminated with microorganisms that could affect the health of those using these areas of research were identified. Inadequate laboratory development or practice in these contaminated sites can become a potential contaminant that can lead to an invasive process and affect the biosecurity of the personnel working there. Biosecurity standards and handling of infectious-contagious samples should be implemented to avoid occupational hazards.

Key words: Microbiology, environment, microorganism, hygiene, biosecurity

Determinación de la Contaminación de Bacterias Gramnegativas en los Laboratorios de Microbiología y Tecnología Médica de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí, de marzo a julio de 2016.

CAPITULO I MARCO INTRODUCTORIO

INTRODUCCIÓN

La Microbiología es una ciencia que a través de la observación y la experimentación distingue las formas microscópicas y que en el caso de la microbiología ambiental hace énfasis en aquellos agentes que causan daño al ser humano en el ambiente donde esté desarrollando o ejecutando una actividad (**Patrick R. Murray 2014**).

El surgimiento de microorganismos resistentes a antibióticos es un gran problema de salud pública, que se puede apreciar muy particularmente en Hospitales, Policlinicas, Centros de Atención Médica, pero una contaminación por algún tipo de microorganismo, también puede llegar afectar la salud de los estudiantes y profesores que utilizan los Laboratorios de las Universidades que imparten carreras en las áreas científicas (Biología, Física, Química, etc.) (**Jawetz, 2002**).

La patogenia de las infecciones bacterianas incluye el inicio del proceso infeccioso y mecanismos que inducen al desarrollo de signos y síntomas de la enfermedad. Las características de las bacterias patógenas incluyen transmisibilidad, adherencia a las células del huésped, toxigenicidad y capacidad para evadir el sistema inmunitario del

huésped. Muchas infecciones causadas por bacterias consideradas comúnmente patógenas son imperceptibles o asintomáticas (**Brooks et al. 2002**).

Según Patrick Murray, los humanos y los animales tienen una flora normal abundante que generalmente no causa enfermedad, pero establece un equilibrio que garantiza la supervivencia, crecimiento y propagación tanto de la bacteria como el huésped. Algunas bacterias son causa importante de enfermedad y, por lo general se cultivan con la flora normal (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, etc.) En ocasiones también se encuentran bacterias claramente patógenas (*Salmonella typhi*), pero la infección permanece latente o subclínica y el huésped es “portador” de la bacteria.

Cuando se investiga un microorganismo como posible causa de la enfermedad, también debe considerarse la respuesta inmunitaria del huésped. Así, una elevación de anticuerpos específicos durante la recuperación de la enfermedad es un apoyo importante a los postulados de Koch.

Las bacterias se adaptan al ambiente, incluso a los animales y humanos, donde normalmente residen y subsisten. De esta manera, la bacteria asegura su supervivencia e incrementa su posibilidad de transmitirse. Cuando produce infección asintomática o enfermedad leve, en vez de la muerte del huésped, el microorganismo que normalmente vive en las personas aumenta la posibilidad de transmitirse de una persona a otra (**Broock et al, 2002**).

La enfermedad aparece si la bacteria o la reacción inmunitaria a su presencia producen suficiente daño a la persona. Las enterobacterias son un vasto grupo heterogéneo de

bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino humano y animales, (p. ej. *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* y otros). Las enterobacteriáceas son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas y otros factores de virulencia. Algunas de estas enterobacterias pueden proliferarse en ambientes húmedos, debe prestarse especial atención a tinas de baño, lavamanos, regaderas, tuberías de agua y otros (**Jawetz, 2002**).

La información genética que le permite a las bacterias evadir la acción de los antibióticos puede ser intrínseca o adquirida. En el primer caso, el microorganismo es resistente en virtud a su contenido innato genético. Mientras que en la resistencia adquirida el contenido genético inicial de la bacteria es transformado, lo que puede ocurrir por mutaciones o por adquisición de nuevo material genético.

Los Laboratorios que desarrollan actividades en las áreas científicas, pueden ser un principal blanco de contaminación, colonización y desarrollo de estas bacterias, ya que no se cuentan con las medidas de bioseguridad mínimas para impedir algún tipo de brote. Siendo relevante este problema en los estudiantes que utilizan los mismos para el desarrollo de alguna actividad académica (**Amaya D., 2009**).

Los procedimientos o actividades que pueden ser invasivos o provocar una contaminación en el laboratorio pueden ser, material o utensilios de trabajo no esterilizados, el no usar bata, el no usar guantes al momento de tocar o manipular algún material contaminado, gafas de protección, entre otros, aumentan también el riesgo de contagio y de

transferencia de bacterias en algunas de las áreas o vías de entradas de las mismas (ojos, manos, bocas, oídos, etc).

Muchas bacterias se transmiten de una persona a otra a través de las manos. Un portador de una bacteria, en cualquiera parte de cuerpo, puede tocar o frotarse las manos y propagar la bacteria a otras partes del cuerpo o a otra persona, donde se produce infección. Muchos patógenos oportunistas que causan infecciones bacterianas se transmiten de una persona a otro a través de una mala práctica de higiene. Por tanto, el lavado de manos es un elemento importante en el control de infecciones (**Jawetz, 2002**).

No obstante, la selección de un antibiótico apropiado no es un proceso simple, debido al creciente aumento de la resistencia bacteriana y a la falta de estudios regionales que brinden información sobre esta problemática. El uso inadecuado de antibióticos está relacionado con la presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico en humanos, el abuso de antibióticos de amplio espectro, así como el uso de dosis sin ningún criterio.

Para el adecuado tratamiento a estas enfermedades infecciosas, solo es necesario conocer el perfil de sensibilidad de las bacterias gramnegativas presentes en estas áreas del laboratorio.

Teniendo en cuenta que los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la UNACHI, son lugares donde se realizan actividades de investigación y procedimientos, donde el inadecuado desarrollo de los mismos puede convertirse en

procesos invasivos y afectar la bioseguridad del laboratorio y el bienestar de los estudiantes y profesores.

En esta investigación se plantea caracterizar diferentes bacterias gramnegativas y sus patrones de sensibilidad, causantes de contagios e infecciones que pueden afectar a los estudiantes y al personal que labora en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la UNACHI, buscando el uso adecuado y correcto de las normas de bioseguridad y los cuidados especiales en el uso de los mismos.

1.1 ASPECTOS GENERALES DEL PROBLEMA.

1.1.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

El considerado control del riesgo biológico se fundamenta en el manejo de la prevención, manipulación y la aplicación de estrategias claras que se relacionen con la educación, la investigación y la vigilancia. Se trata de un estudio donde se unen la investigación y la educación para validar la efectividad en el proceso de diseminación de la contaminación generada por la manipulación del material biológico. En el desarrollo de las actividades educativas el estudiante y los profesional que imparte clases genera conjuntamente con el ambientes factores o contaminantes que pueden afectar dicha actividad en las Universidades de nuestro país.

Una parte de la población universitaria, haciendo énfasis en la facultades que imparten carreras del área de salud, tanto estudiantes como docentes, que realizan actividades o prácticas de docencia y de aprendizaje en los laboratorios de esta facultades, están expuestos al contacto con diferentes microorganismo causantes de infecciones.

No es raro observar a los estudiantes y profesores que están realizando docencias en los laboratorios, salir de los mismos con la bata puesta, guantes usados y contaminados, manipulando los manubrios y perillas de las puertas del laboratorio e incluso transportando el material de trabajo que puede ser infeccioso o contaminantes de un lugar a otro sin ningún tipo de bioseguridad, como también se dirigen a los baños o a otras áreas sin las condiciones mínimas de limpieza y aseo para salir o entrar a los mismo.

1.1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

A nivel nacional y en la provincia de Chiriquí, se puede observar una alta probabilidad, de que pueda ocurrir una contaminación en los laboratorios de las Instituciones de enseñanza a nivel superior (Universidades), donde se imparten actividades o practicas docentes y experimentales a los estudiantes y profesores, en carreras de área de la salud. Las infecciones o contaminación causadas por microorganismos, pueden ocurrir en los laboratorios donde se utilizan materiales o muestras que pueden causar daño en la salud de las personas (estudiantes y docentes) que no utilizan alguna barrera de protección. Por esta razón continúa siendo en la actualidad un problema relevante en las Universidades de nuestra provincia.

Producto de esta situación los estudiantes o docentes pueden presentar manifestaciones clínicas de diversas enfermedades como: diarrea, resfriado, lesiones en la piel, faringitis, e incluso hasta cuadros de influenza.

1.2 OBJETIVO GENERAL

- Distinguir las Bacterias Gramnegativas contaminantes y su patrón de susceptibilidad, en los laboratorios de Microbiología y Tecnología

Médica de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Aislar Bacterias gramnegativas de las muestras recolectadas de los diferentes sitios en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la UNACHI.
- b. Identificar las Bacterias gramnegativas aisladas en los laboratorios
- c. Relacionar la tasa de prevalencia de Bacterias gramnegativas encontradas en los equipos y sitios contaminados de los laboratorios.

1.4 ALCANCES DEL TRABAJO

- Mejorar la confiabilidad y la bioseguridad de los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas.

1.5 LIMITACIONES

- La determinación solamente de bacterias gramnegativas causantes de contaminaciones e infecciones que pueden causar daño a la salud a los que utilizan los Laboratorios de Tecnología Médica y Microbiología.
- Se realizó en un periodo y lugar determinado.
- Demora administrativas para generar los permisos para realizar este estudio.

1.6 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA.

El buen uso de medidas de bioseguridad y el uso adecuado del material y de muestras que se utilicen en las prácticas dentro de los laboratorios, juegan un papel importante en la vida de los estudiantes y los docentes. Las manifestaciones clínicas causantes de una mala práctica pueden afectar o causar daño muy significativo al tejido hematopoyético, en la piel, aparato digestivo, aparato respiratorio y sistema nervioso central.

La gran población de estudiantes que cuenta la UNACHI y que utilizan los Laboratorio de Tecnología Médica y Microbiología para sus clases, oscila entre los 2500 a 3000 estudiantes. Los mismos al no tener presente estos riesgos de contaminación y el buen uso de normas de bioseguridad, como es tan simple un lavado de mano. Puede desencadenar una serie de procesos que al final son nocivos para la salud y su entorno, Por ejemplo: El estudiante que sale del laboratorio con su bata puesta y hasta en muchas ocasiones se retiran de la Universidad con sus manos sucias y contaminadas, llega a la parada de buses, saluda a un grupo de personas o amigos, después al tomar el bus le da el dinero al chofer del mismo, al bajar del bus llega a su casa saluda a sus familiares y en muchas ocasiones no se lavan las manos antes de cenar y se llevan estos alimentos su estómago. Eh aquí el gran problema que podemos llegar a tener, de un simple malestar a quedar en un cuarto de urgencias de un centro de salud.

Dentro de las manifestaciones clínicas que pueden presentarse están: debilidad, mareo, en las manifestaciones digestivas pueden ser vómito, pérdida de peso, diarrea; en las respiratorias, tos con abundante mucosidad, en cuanto a las

manifestaciones del sistema nervioso central, dolor de cabeza intenso, cefalea o migraña.

Es de vital importancia analizar minuciosamente las bacterias posibles causales de contagios o contaminación en los Laboratorios de las Universidades, con el fin de aislar, identificar y determinar la susceptibilidad, de estos posibles patógenos de manera temprana y de esta manera poder implementar a futuro normas de bioseguridad y manejo de muestras infectocontagiosas que se trabajan en los laboratorio.

CAPITULO II MARCO TEORICO

2.1 LOS MICROORGANISMOS EN EL MEDIO AMBIENTE.

La microbiología ambiental estudia la presencia de los microorganismos en un ambiente determinado, la actividad que estos desarrollan en interacción con los otros componentes bióticos y abióticos del ecosistema; y correlaciona la microbiota existente con las características de este ambiente **(Jawetz, 2002)**.

El estudio de los seres vivos, que sólo son visibles ante el poder resolutivo de un microscopio, en la nueva clasificación de los seres vivos los podríamos ubicar como procariontes principalmente y eucariontes simples y es parte del estudio de la microbiología ambiental. Dentro de los procariontes, es decir aquellos unicelulares, formados por células procariontes sin núcleo definido, tendríamos a las Bacterias y a los eucariontes formados por células con núcleo definido entre los cuales valdrían mencionar las Algas y los Hongos, y aquellos que estarían por debajo de cualquier clasificación de los seres vivos dentro de los cuales estarían los Virus y los priones, que están conformados por células, sino por pequeños agregados celulares **(Palomino, 1995)**.

Hablar de microorganismos y dar a entender solo su participación en el desarrollo de enfermedades infectocontagiosas como agentes causales de las mismas y que poseen solo un carácter patógeno es irreal, ya que muchos de ellos nos benefician en la Industria, Alimentación, Medicina, Agricultura y en el tema que nos ocupa, que es el desarrollo de procesos biológicos de descontaminación de agua, aire o suelo **(García C. A., 2013)**.

2.2 IMPACTO DE LA MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL.

Tenemos que tener en cuenta que en la microbiología ambiental una de las grandes virtudes o alcances es valorar los riesgos de las infecciones ocasionadas por microorganismos patógenos presentes en el agua, aire y suelo. Reconocer acciones preventivas para evitar la contaminación ambiental y el velar por el adecuado uso o desarrollo de las mismas, como también tomar conciencia del daño que ocasionan los residuos sólidos como los Industriales, Plaguicida, Metales pesados. La contaminación del hombre en el entorno donde vive, trabaja o donde desarrollo algún tipo de actividad es también parte importante del estudio de la microbiología ambiental.

Otro gran alcance de esta ciencia es la identificación de los diferentes microorganismos de importancia médica, la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas o infectocontagiosas causadas por microorganismos en plantas, animales y el hombre, y en la manera en que se desarrollan en su ambiente. Sabemos que es evidente que la Microbiología abarca un campo muy amplio, cubriendo en particular la Microbiología Ambiental en muchos aspectos relacionados con la calidad de vida actual (**Ezpeleta-Baquedano C. et al 2013**).

Los microorganismos pueden ser transitorio y encontrarse ocasionalmente en los ambientes, se caracterizan por su mayor vulnerabilidad a los cambios ambientales. En cambio los que forman parte de la flora residente se encuentran normalmente en el ambiente que los acoge y aun cuando pueda disminuir su densidad poblacional por algún cambio drástico en el medio ambiente, son capaces de recuperar su densidad normal una vez pasado el efecto. Prácticamente todos los ambientes están poblados por microbios,

por esta distribución tan amplia, prácticamente no existe material en la naturaleza que no pueda ser degradado por los microorganismos.

Por mucho tiempo se ha creído que la fertilidad del suelo se debe solamente a la presencia de nitrógeno, fósforo, potasio y otros elementos. Sin embargo, el avance de la microbiología del suelo ha puesto de manifiesto que el suelo no es un medio al que se incorporan semillas para luego cosecharlas como productos, sino más bien que el suelo es un sistema dinámico en el que los microorganismos desempeñan un rol importante en el reciclaje de los elementos biogeoquímicos, ya sea fijándolos de la atmósfera, liberándolos de residuos orgánicos o solubilizándolos de las rocas, por estas razones la importancia de los microorganismos como recicladores de nutrientes debe recibir especial atención (**García C. A., 2013**).

La naturaleza selecciona a las especies más aptas. Sin embargo, actualmente es el ser humano quien introduce mayores condiciones de selectividad que deteriora la diversidad biológica. La diversidad biológica del planeta es producto de la adaptación de los seres vivos a los cambios que sufren desde su aparición, haciendo superar la competencia que se genera entre las especies para procurar su sustento (alimento / nicho). Muchas especies han desaparecido y otras pocas lograron quedarse, pues el ser que no es capaz de adaptarse. Los microorganismos son los seres con mayores ventajas de adaptación por su organización sencilla. Estos pequeños seres pueden adaptarse a las nuevas condiciones bajo dos mecanismos.

- Adaptación genética: la presencia de los diversos factores ambientales provoca modificación en la constitución de los microorganismos y permite la continuidad

de los nuevos rasgos genéticos que ofrezcan mayor competitividad. Estos caracteres se heredan de generación en generación.

- Adaptación fisiológica: que es cambio temporal del organismo mientras prevalece determinado factor ambiental. El organismo vuelve a su estado normal cuando este factor desaparece.

Bajo ciertas condiciones las adaptaciones fisiológicas pueden transformarse en genéticas. Po ejemplo, se ha observado que la presencia continua de antibióticos induce la permanencia de los microorganismos que poseen el plásmido que media su resistencia, mientras que las que no poseen este plásmido parecen, inclusive este plásmido pueden transformarse en transposon y ser parte ocasional del genóforo de la bacteria. La permanencia definitiva de estos nuevos caracteres está condicionada por la presión continua del factor que induce su aparición.

2.3 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGÍA

La Microbiología ambiental como ciencia tiene aplicaciones importantes, que producen impacto en nuestra vida cotidiana en las áreas características:

Medicina:

- Identificación de los diferentes microorganismos de importancia médica.
- Prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por microorganismos en plantas y animales, incluyendo al hombre.

Industrial:

- En procesos de fermentación en la producción de antibióticos, ácidos orgánicos, aminoácidos, enzimas, disolventes, combustibles (metano, etanol y otros).
- Recuperación de recursos minerales, reforzada por acción microbiana.

- Control de calidad de productos industriales: Biodeterioro de papel, madera, textiles, pintura y corrosión de metales.

De los Alimentos:

- Deterioro microbiano de los alimentos.
- Métodos de conservación de los alimentos.
- Producción de alimentos por métodos microbiológicos: Productos lácteos, fermentación del pan, bebidas alcohólicas (**A. Bull, G. Holt and M. Lilly, 1982**).

Microbiología Ambiental:

- Ciclos biogeoquímicos (Fijación del Nitrógeno en el suelo).
- Interacciones entre las poblaciones: Simbiosis fijadora de nitrógeno, Micorrizas.
- Los microorganismos en sus hábitats naturales: aire, agua, suelo y ambientes extremos (aguas termales, lagos salados, y otros).
- Reducción de la Calidad y la Contaminación Ambiental.

Actualmente está ampliamente documentado el impacto negativo del hombre sobre los procesos naturales de descomposición de materia orgánica y de su inmovilización para que los ciclos biogeoquímicos faciliten la productividad agrícola. En esta actividad fue considerada contaminante por sus efectos sobre la estructura del suelo, con la introducción del monocultivo vegetal, al igual que el uso intensivo y extensivo de fertilizantes químicos y pesticidas para el control de plagas y enfermedades, y por el empleo de maquinaria agrícola con sus insumos, que tuvieron y tienen un drástico impacto sobre las diversas interacciones microbianas, que influyen directa y drásticamente sobre los procesos de descomposición de materia orgánica que aumenta o reduce la productividad de un suelo al cambiar las concentraciones de los macro

elementos limitantes de su crecimiento, además de la aplicación de pesticidas de amplio espectro, que reducen la densidad y diversidad de las poblaciones microbianas, que favorecen la dominancia de los que causan problemas de sanidad vegetal, al eliminar las poblaciones nativas antagonistas de los fitopatógenos, así como de aquellas benéficas.

En consecuencia los suelos originalmente productivos se transforman en pobres y contaminados por su pérdida de diversidad biológica y de minerales que faciliten la producción agrícola. La agricultura sustentable es un intento por retornar a prácticas culturales que causen el mínimo impacto negativo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, para una producción agrícola basada en la conservación del suelo, que evite su sobreexplotación: mediante la labranza cero, optimización en el uso y manejo del agua, por la restricción estricta en la aplicación de fertilizantes químicos, con una tendencia a su disminución o sustitución con abonos verdes, animales o composta (**Álvarez de Weldefort y Campuzano, 2003**).

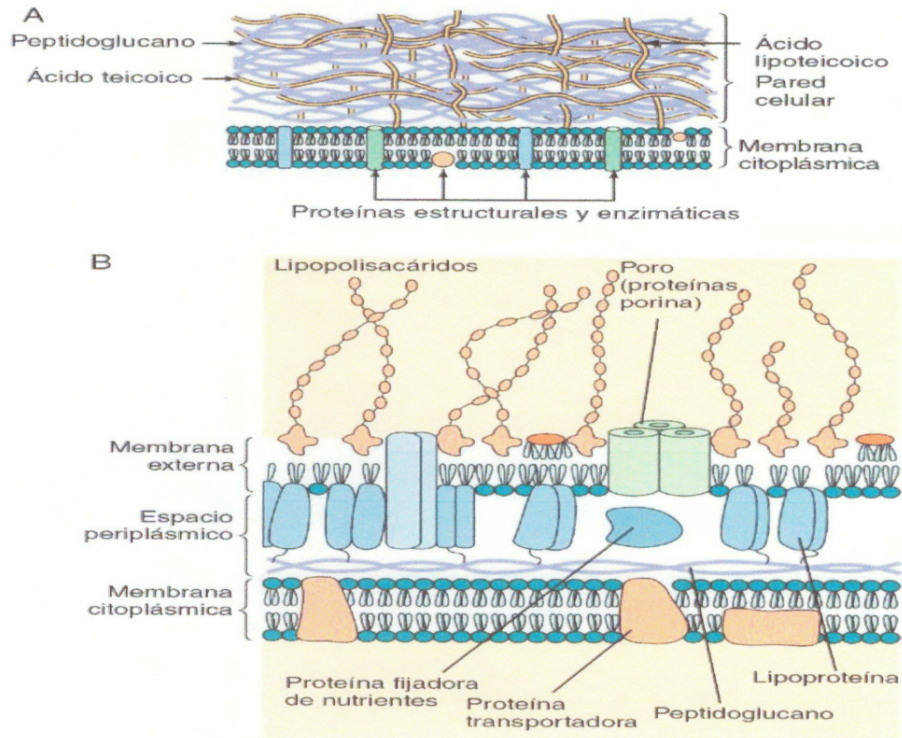
En los últimos años ha habido un interés creciente en los microorganismos benéficos del suelo. Tales microorganismos pueden ser simbióticos o de vida libre. En este último caso están asociados a las partículas del suelo e interactúan con las raíces de las plantas al encontrarse en los gránulos de suelo adheridos a las mismas en la zona de la rizósfera, donde son capaces de ejercer un conjunto de interacciones producto de la competencia por nutrientes. Una de las razones principales para esa interacción es la liberación de compuestos orgánicos solubles por exudación de la raíz de la planta producto de su metabolismo (**Lugtenberg et al., 2002**). Las plantas son consideradas un complejo micro ecosistema compuesto por diferentes hábitats y pueden ser colonizadas simultáneamente

por una gran diversidad de bacterias endofíticas (**Chelius & Triplett, 2001; Lodewyckx et al., 2002**).

2.4 BACTERIAS GRAMNEGATIVAS

En microbiología, se denominan bacterias Gram negativas aquellas que no se tiñen de azul oscuro o de violeta por la tinción de Gram, y lo hacen de un color rosado tenue, de ahí el nombre de "Gram negativas" o también "gramnegativas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura didérmica dada por la envoltura celular, pues presenta doble membrana celular (una externa y la otra citoplasmática), lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Las bacterias Gram negativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglucano, mientras que las bacterias Gram positivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared de peptidoglucano es mucho más gruesa (Figura 1). Al ser la pared fina, no retiene el colorante durante la tinción de Gram (**Murray, 2014**).

Figura 1. Comparación de la pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativas.



Fuente: Patrick R. Murray (2014)

A. Una bacteria grampositivas posee una gruesa capa de peptidoglucano que contiene ácido teicoico y lipoteicoico. **B.** Una Bacteria gramnegativo posee una capa de peptidoglucano delgada y una membrana externa que contiene lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas. El espacio periplásmico existente entre la membrana citoplásmica y la membrana externa contiene lar proteínas de transporte, degradación y síntesis de la pared celular. La membrana externa está unida a la membrana citoplásmica en unos puntos de adhesión; asimismo, está fija al peptidoglucano por enlaces de lipoproteínas.

Los bacilos Gram negativos incluyen un gran número de especies. Algunos de ellos causan principalmente enfermedades respiratorias (*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), enfermedades urinarias (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*,) y enfermedades gastrointestinales (*Helicobacter pylori*, , *Salmonella sp*). Otros están asociadas a infecciones nosocomiales (*Acinetobacter baumannii*).

Las bacterias poseen una estructura relativamente simple. Son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi, ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual. La pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular grampositiva con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular gramnegativas con una delgada capa de peptidoglucano, (Figura 2) así como una membrana externa (Fernández, 2010).

Cuadro 1. Estructuras de la Membrana Bacteriana

Estructura	Constituyentes Químicos	Funciones
Membrana plásmatica	Fosfolípidos, proteínas y enzimas	Contención, generación de energía, potencial de membrana y transporte
Pared Celular Bacterias Grampositivas		
Peptidoglucano	Cadenas de glucano de GlcNAc y MurNAc entrecruzados por un puente péptidico	Forma y estructura celular; protección frente al ambiente y destrucción por el complemento
Ácido teicoico	Polirribitol fosfato o glicerol fosfato unido al peptidoglucano	Refuerza la pared celular; secuestro del ion calcio; activador de protecciones innatas del hospedador
Ácido lipoteicoico	Ácido teicoico unido a lípido	
Bacterias gramnegativas		
Peptidoglucano	Versión más delgada de la que se encuentra en las bacterias grampositivas	Forma y estructura celulares
Espacio periplásmico		Enzimas implicadas en el transporte, la degradación y la síntesis
Membrana externa		Estructura celular; protección frente al ambiente del hospedador
Proteínas	Canal de porina Dispositivos secretores (tipos I, II, III, IV)	Penetración de pequeñas moléculas hidrofílicas, algunos antibióticos Penetra y libera proteínas a través de las membranas, incluidos factores de virulencia
LPS	Lipoproteína Lípido A, polisacárido de la región central, antígeno O	Unión de la membrana externa al peptidoglucano Estructura de la membrana externa; potente activador de respuestas innatas del hospedador
Fosfolípidos	Con ácidos grasos saturados	
Otras estructuras		
Cápsula	Polisacáridos (disacáridos y trisacáridos) y polipéptidos	Antifagocítica
Biopelícula	Polisacáridos	Protección de a colonia frente al ambiente, antimicrobianos y respuesta del hospedador
Pili	Pilina, adhesinas	Adherencia, pili sexuales
Flagelo	Proteínas motoras	Movimiento, quimiotaxia

Fuente: Patrick R. Murray (2014).

2.4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE UNA BACTERIA.

Se distinguen dos tipos básicos de células en función de su organización interna: Células procariotas y Células eucariotas (Figura 3). En las células procariotas a diferencia de las eucariotas, la región nuclear no está rodeada por una membrana, consta de una única molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) y su división no es mitótica. En la estructura celular procariota típica de una bacteria se pueden distinguir en general, las siguientes partes.

Cuadro 2. Principales Características de las Células Eucariotas y las Procariotas

Características	Eucariotas	Procariotas
Principales grupos	Algas, hongos, protozoos, plantas, animales	Bacterias
Tamaño (aproximado)	> 5µm	0.5-3 µm
Estructuras del núcleo		
Núcleo	Membrana nuclear clásica	Sin membrana nuclear
Cromosomas	Cadenas de ADN, Genoma diploide	ADN único, Genoma haploide
Estructuras del citoplasma		
Mitocondrias	Presentes	Ausentes
Aparato de Golgi	Presente	Ausente
Reticulo Endoplasmático	Presente	Ausente
Ribosomas	80S (60S+40S)	70S (50S+30S)
Membrana citoplásmica	Contiene esteroides	No contiene esteroides
Pared celular	presente en los hongos; ausente en los demás eucariotas	Es una estructura compleja formada por proteínas, lípidos y peptidoglucanos
Reproducción	Sexual y Asexual	Asexual
Movimiento	Flagelos complejos, si existen	Flagelos simples, si existen
Respiración	Vía mitocondrial	A través de la membrana citoplásmica

Fuente: Patrick R. Murray (2014).

El organismo humano está acondicionado a controlar la exposición a microorganismos patógenos. Distintas barreras físicas impiden la invasión o contaminación por los microorganismos; las respuestas innatas reconocen patrones moleculares característicos de los componentes microbianos y activan los mecanismos de defensa local y las

respuestas inmunitarias específicas que actúan contra el microorganismo con el propósito de eliminarlo.

Es fácil imaginarse la emoción que sintió en 1674 el biólogo holandés Anton Van Leeuwenhoek cuando examinó con sus lentes de microscopio, cuidadosamente pulimentadas, una gota de agua y descubrió un mundo formado por millones de diminutos «animálculos». Casi 100 años después el biólogo danés Otto Müller amplió los estudios de Van Leeuwenhoek y, siguiendo los métodos de clasificación de Carlos Linneo, organizó las bacterias en géneros y especies. Se trataba del inicio de la clasificación de los microorganismos (Murray, 2014).

También podemos encontrar bacterias en el ambiente donde nos encontremos, como el aire que se respira, el agua que se bebe, en los alimentos que comemos y en las áreas donde estemos desarrollando algún tipo de actividad; aunque muchas de ellas son relativamente virulentas o provocadas por algún microorganismo, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. Lamentablemente, en estos casos la respuesta inmunitaria es, con frecuencia, excesivamente tardía o lenta.

Para las bacterias, el cuerpo humano es un conjunto de nichos ambientales que le proporcionan el calor, la humedad, el alimento y las condiciones necesarias para el crecimiento y el desarrollo de las mismas. Las bacterias han adquirido características genéticas que les permiten entrar en (invadir) el ambiente, permanecer en un nicho (adherir o colonizar), lograr el acceso a las fuentes de nutrientes (enzimas degradativas) y evitar las respuestas protectoras inmunitarias y no inmunitarias del hospedador.

Cuando hay un número suficiente de bacterias (quórum), ponen en marcha funciones para sustentar la colonización. No obstante, muchos de los mecanismos que las bacterias utilizan para mantener sus nichos y los productos derivados del crecimiento bacteriano, producen daños y problemas en el hospedador humano **(Rorental, 2014)**.

La enfermedad es el resultado del daño o la pérdida de función de un tejido u órgano debido a la infección o respuesta infecciosa, los signos y síntomas de una enfermedad están determinados por el cambio en el tejido afectado. Las respuestas sistémicas se deben a la acción de toxinas y citosinas fabricadas como respuesta a la infección. La gravedad del proceso depende de la importancia del órgano afectado, el área afectada y la extensión del daño causado por la infección.

Las infecciones o daños del sistema nervioso central, sistema gástrico, etc., provocados por microorganismos, estas son siempre graves. Igualmente, la cepa bacteriana y el tamaño del inóculo son factores fundamentales en la aparición de síntomas o el desarrollo de una enfermedad, ya que puede existir o darse desde un inóculo relativamente pequeño.

La boca, la nariz, el aparato respiratorio, los oídos, los ojos, el aparato urogenital y el ano son los sitios a través de los cuales pueden entrar las bacterias en el organismo. Estas aberturas naturales de la piel y sus cavidades corporales asociadas están protegidas por defensas naturales como la mucosidad y el epitelio ciliado del aparato respiratorio superior, la lisozima y otras secreciones antibacterianas en las lágrimas, en la mucosidad y los ácidos y la bilis en el aparato digestivo. Sin embargo, muchas bacterias no se ven afectadas o disponen de ciertos mecanismos para eludir estas defensas.

2.4.2 MECANISMO DE RESISTENCIA BACTERIANO.

Las bacterias son capaces de adquirir resistencia en función de su variabilidad genética. Nuevos mecanismos de resistencia pueden ser adquiridos mediante mutación o mediante transferencia de material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extra cromosómico (plásmidos).

Los mecanismos de resistencia a antibióticos por parte de las bacterias son diversos, también lo son sus mecanismos de transmisión; por tanto, es pertinente tener en cuenta los determinantes genéticos y los mecanismos de resistencia de los que se valen las bacterias para enfrentarse a los antimicrobianos (Figura 4).

El conocimiento actual sobre los mecanismos de duplicación de la bacteria y sobre los mecanismos de resistencia, hace esperar que cada vez más los nuevos antimicrobianos sean sustancias puramente sintéticas con gran especificidad por un sitio de acción previamente elegido y con una adecuada resistencia a la inactivación por los mecanismos de resistencia antibiótica (S. Salaverri, 2006).

2.4.3. TIPOS DE MECANISMO DE RESISTENCIA.

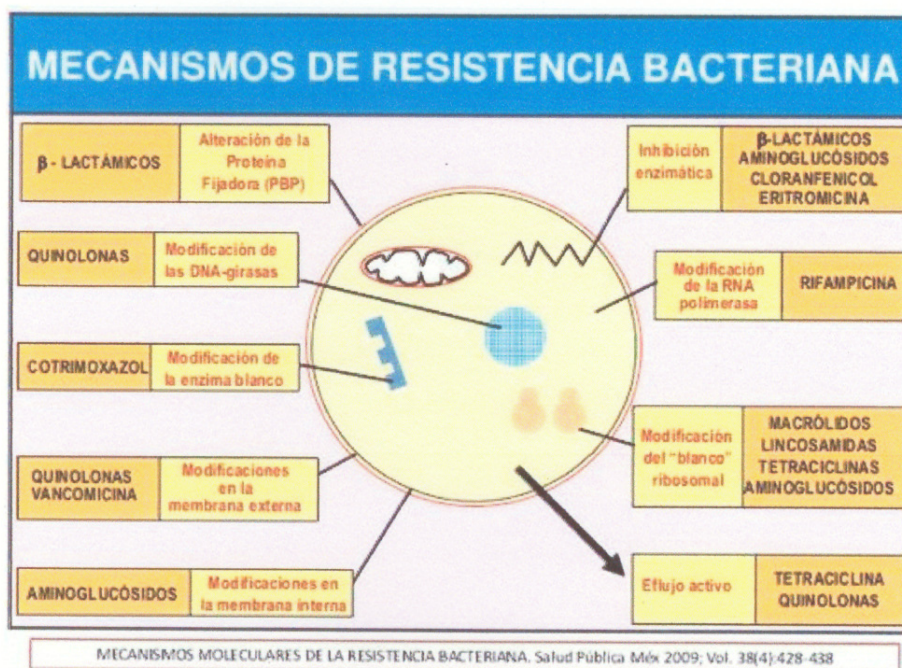
- **Inhibición de la síntesis de la pared celular.** El mecanismo más común de actividad antibiótica es la interferencia en la síntesis de la pared celular bacteriana. La mayoría de los antibióticos activos sobre la pared se clasifican en antibióticos b-lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas,

carbapenems, monobactams, inhibidores de b-lactamasa), así denominados porque comparten una estructura de anillo b-lactámico común.

- **Inhibición de la membrana bacteriana.** Es vital para todas las células, ya que interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo, y de esta forma controla la composición del medio interno celular. Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, y provocan la salida de iones potasio, elementos esenciales para la vida bacteriana, o la entrada de otros que a altas concentraciones alteran el metabolismo bacteriano normal. Los antimicrobianos que actúan en esta estructura se comportan como bactericidas y pueden tener alta toxicidad sobre las células humanas, al compartir algunos componentes de la membrana citoplásmica.
- **Inhibición de la síntesis de Proteínas.** La acción principal de los agentes en la segunda clase más importante de antibióticos es la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos antibióticos ejercen su acción al pasar a través de la membrana externa bacteriana (en bacterias gramnegativas), la pared celular y la membrana citoplasmática al citoplasma, en donde inhiben la síntesis de proteínas al unirse de modo irreversible a las proteínas ribosómicas 30S. Esta unión a los ribosomas tiene dos efectos: producción de proteínas aberrantes como consecuencia de una lectura errónea del ARN mensajero (ARNm) y la interrupción de la síntesis de proteínas al producir la liberación prematura del ribosoma del ARNm. Los aminoglucósidos son bactericidas por su capacidad para unirse irreversiblemente a los ribosomas y se utilizan comúnmente para tratar infecciones graves causadas por bacilos gramnegativos.
- **Inhibición de la síntesis de Acido Nucleicos.** Las quinolonas son una de las clases de antibióticos más utilizados. Son agentes quimioterapéuticos

sintéticos que inhiben la topoisomerasa de tipo II en el ADN bacteriano o la topoisomerasa de tipo IV, que se requieren para la replicación, recombinación y reparación del ADN. La subunidad A del ADN es la principal diana quinolónica en las bacterias gramnegativas, mientras que la topoisomerasa de tipo IV es la principal diana en las bacterias grampositivas (**Madigan et al. Brock, 2002**).

Figura 2. Mecanismo de Resistencia Antimicrobiana



Se puede decir de otra manera, que la gran mayoría de los mecanismos de resistencia pueden agruparse en tres categorías.

- Inactivación enzimática: el principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, pero también pueden

ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.

- Modificaciones en el sitio blanco: existen diversas estrategias para alcanzar este objetivo. Modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, la otra que puede ser es la adquisición de genes que codifiquen para sustitutos de los blancos originales, como PBP2' en *Staphylococcus spp.* meticilinoresistentes.
- Alteraciones de la permeabilidad, donde podemos destacar tres tipos:
 1. Alteraciones de las membranas bacterianas: se ve fundamentalmente en gramnegativos, donde la membrana externa de la envoltura celular rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas. De este modo dichas sustancias quedan confinadas a la penetración a través de proteínas transmembrana con función de porinas. Existen algunas moléculas de antibiótico, como penicilina y vancomicina, que por su tamaño son incapaces de pasar a través de las porinas de bacilos gramnegativos. Se considera que en este caso los niveles de resistencia alcanzados no suelen ser suficientes como para conferir resistencia absoluta a un antibiótico.
 2. Alteraciones en la entrada de antibióticos dependiente de energía, como ocurre en la primera etapa de ingreso de los aminoglucósidos.
 3. Aumento de la salida de antibióticos: la resistencia por flujo es un mecanismo inespecífico. En gramnegativos estos sistemas en general se encuentran constituidos por tres proteínas: una de alto peso molecular asociada a la membrana citoplasmática, una con función de fusión de ambas membranas y una porina asociada a la membrana externa (**R. Vignoli, V. Seija, 2002**).

La RAM es un fenómeno que aparece de forma natural con el tiempo, generalmente por modificaciones genéticas. Sin embargo, el proceso se ve acelerado por el mal uso y el abuso de los antimicrobianos. En muchos lugares hay un abuso y mal uso de los antibióticos tanto en las personas como en los animales, y es frecuente que se administren sin supervisión de un profesional. Como ejemplos de uso incorrecto se pueden citar su administración para tratar infecciones víricas, como los resfriados o la gripe, o su uso como promotores del crecimiento del ganado.

Los microorganismos resistentes a los antimicrobianos están presentes en las personas, los animales, los animales y el medio ambiente (agua, suelo y aire), y pueden transmitirse de persona a persona o entre las personas y los animales. El mal control de las infecciones, las condiciones sanitarias deficientes y la manipulación inadecuada de los alimentos fomentan la propagación de la RAM.

2.5 PATOGENIA DE LA INFECCIÓN BACTERIANA

La patogenia de la infección bacteriana incluye inicio del proceso infeccioso y mecanismo que inducen el desarrollo de signos y síntomas de la enfermedad. Las características de las bacterias patógenas incluyen transmisibilidad, adherencia a las células del huésped, invasión de células y tejidos del huésped, toxigenicidad y capacidad para evadir el sistema inmunitario del huésped. Muchas infecciones causadas por bacterias comúnmente consideradas patógenas son imperceptibles o asintomáticas. La enfermedad aparece si la bacteria o la reacción inmunitaria a su presencia producen suficiente daño a la persona

Un aspecto adicional a considerar en la ecología microbiana es el referente a los tipos de interacción que pueden establecer los microorganismos entre sí y con los seres humanos.

Los microorganismos están presentes en todas las superficies exteriores de los utensilios, en el aire, en el agua, en los alimentos y en las cavidades internas del cuerpo que tienen conexión con el exterior (tracto respiratorio y tracto digestivo). En condiciones normales, los órganos y cavidades internas carecen de microorganismos son estériles. De la misma manera, el interior de los músculos o de cualquier tejido sólido está estéril.

Los microorganismos no se encuentran aislados, sino que su número suele ser muy elevado por unidad de volumen o por unidad de superficie. Por consiguiente, allí donde se encuentran son muy abundantes. Además suelen formar agrupaciones de varios microorganismos que interactúan entre sí, unos pueden usar como alimento los productos residuales de otros, o pueden ser atacados por los vecinos que compiten por el mismo alimento.

Las manifestaciones clínicas de las enfermedades (diarrea, tos, secreciones, dolor) producidas por los microorganismos, con frecuencia promueven la transmisión o contaminación de estos agentes. Por mencionar o dar un ejemplo de síndromes clínicos y la manera de incrementar la transmisión de la bacteria causante de estas manifestaciones clínicas son los siguientes: *E. coli*. Esta bacteria puede causar diarrea intensa que a veces pueden contaminar el agua salada o dulce; quienes beben esa agua o se alimentan de mariscos pueden infectarse o contaminarse esta ingestión a veces produce infecciones y enfermedades. De manera similar, la contaminación de algún microorganismo donde estemos desarrollando algún tipo de actividad docente (laboratorio o experimento) con materiales infectocontagiosos (secreciones, líquido o heces, etc) sino tenemos conocimiento de uso mínimo de normas de bioseguridad al momento de manipular estas

muestras, corremos un alto riesgo de contagiarnos o contaminarnos con microorganismo altamente nocivos para la salud y el bienestar corporal.

De manera que un contagio con una muestra infectocontagiosa puede causar síntomas que puede ser de muy leves hasta graves; estas misma también teniendo un alto grado de contagio o contaminación con las personas, con el entorno o con los objetos que estemos manipulando en esos momentos (lápiz, bolígrafos, guantes, perillas de agua, manubrio de puertas, etc). También al no tener claro, el uso correcto de las normas de manipulación y de bioseguridad, podemos transmitir o contaminar dichos microorganismos a otras áreas, y esto sería un foco de trasmisión a otras personas. Corriendo el riesgo de propagar o desarrollar alguna enfermedad que puede perjudicar la salud del entorno laboral.

Figura 3. Los desconocimientos de las normas de bioseguridad dentro de los laboratorios, pueden causar efectos nocivos en los seres humanos



Fuente: Ureña A. 2016

La apropiada recogida de la muestra y su rápida remisión al laboratorio son responsabilidad principalmente del docente o del facilitador y la orientación de la misma que le dé a sus estudiantes, mientras que él selecciona los sistemas de transporte

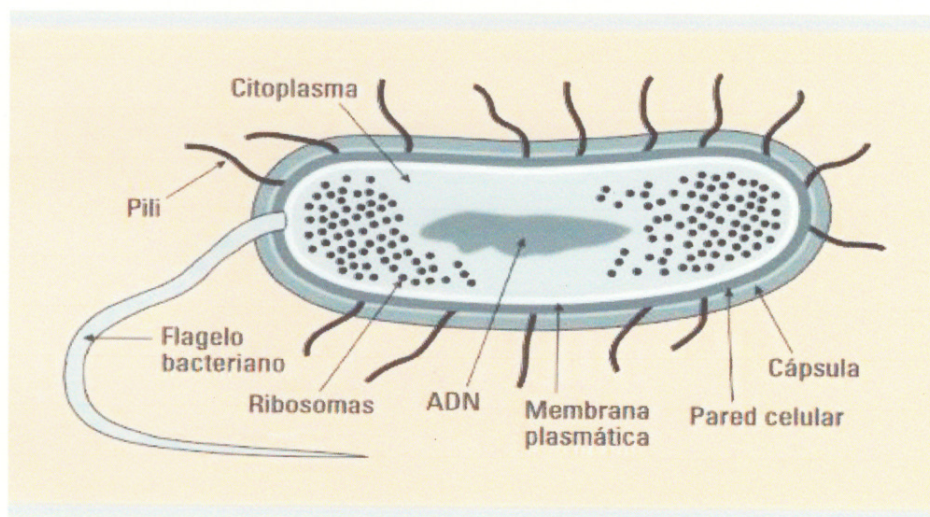
apropiados y el método de detección (p. ej., microscopia, cultivo, preparación de la muestra, manipulación y hasta el descarte de la misma). Estas responsabilidades no son mutuamente excluyentes. Por otra parte, el docente debe de estar preparado para alertar a los estudiantes sobre el tipo de muestras que se deben recoger en caso de sospecha de un diagnóstico concreto.

2.6 LAS ENTEROBACTERIÁCEAS

Las Enterobacteriaceae son el grupo más frecuente de bacilos gramnegativos que se cultivan en el laboratorio clínico y junto con otras bacterias Grampositiva (estafilococos y los estreptococos) son las bacterias que más a menudo producen enfermedades.

La taxonomía de las Enterobacteriaceae es compleja y rápidamente cambiante desde el advenimiento de técnicas que miden la distancia evolutiva, por ejemplo, la hibridación de ácido nucleico y la secuenciación de ácido nucleico.

Figura 4. Estructura del género Enterobacteriaceae



Fuente: García, A.P. y Rodríguez, F.M. 2002

Las enterobacteriáceas son un vasto grupo heterogéneo de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros (*Escherichia sp*, *Shigella sp*, *Salmonella sp*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Serratia sp*, *Proteus sp* y otros). Algunos microorganismos entéricos, como *Escherichia coli*, forman parte de la microbiota normal e incidentalmente causan enfermedad; en tanto que otros, *Salmonelas* y *Shigelas*, con gran frecuencia son patógenas para humanos. Las enterobacteriáceas son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen varias toxinas y otros factores de virulencia. La familia *Enterobacteriaceae* muestra las siguientes características: son bacilos gramnegativos dotados de motilidad por flagelos periticos o carentes de motilidad; crecen sobre peptona o medios con extracto de carne sin adición de cloruro de sodio ni otros suplementos; crecen bien en agar de Mac Conckey; crecen en condiciones aerobias y anaerobias (son anaerobios facultativos); fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa-positivos, oxidasa-negativos y reducen el nitrato a nitrito (Murray, 2014).

2.7 AGENTES ANTIBACTERIANOS

Entre algunos de los agentes antibacterianos podemos mencionar los de más importancia clínica y los causantes de más patologías a los seres humanos.

2.7.1 *Escherichia*. *E. coli* suele producir pruebas con positividad para indol, lisina descarboxilasa y fermentación de manitol y produce gas a partir de glucosa. Una cepa de la orina se puede identificar rápidamente como *E. coli* por su hemólisis en agar sangre, su morfología de colonia en medios diferenciadores como agar EMB y una prueba de indol de mancha positiva.

- 2.7.2 *Grupo de Klebsiella-Enterobacter-Serratia*. Las bacterias del género *Klebsiella* muestran multiplicación mucoide, cápsulas de polisacárido de gran tamaño y falta de motilidad, y por lo general producen pruebas positivas para lisina descarboxilasa y citrato. La mayor parte del género *Enterobacter* produce pruebas positivas para motilidad, citrato y descarboxilasa de ornitina y produce gas a partir de glucosa.
- 2.7.3 *Grupo de Proteus-Morganella-Providencia*. Los miembros de este grupo desaminan fenilalanina, son móviles, se multiplican en medio de cianuro de potasio (KCN). Las bacterias del género *Proteus* y *Morganella morganii* producen ureasa, en tanto que las bacterias del género *Providencia* no suelen producirla. El grupo *Proteus-Providencia* fermenta lactosa con mucha lentitud o no la fermenta.
- 2.7.4 *Citrobacter*. Estas bacterias suelen producir citrato y difieren de las salmonelas en que no descarboxilan lisina. Fermentan lactosa con gran lentitud en el peor de los casos.
- 2.7.5 *Shigella*. Las shigelas son no móviles y por lo general no fermentan lactosa pero sí fermentan otros hidratos de carbono, produciendo ácido pero no gas. No producen H₂S.
- 2.7.6 *Las Salmonelas*: son bacilos móviles que de manera característica fermentan glucosa y manosa sin producir gas pero no fermentan lactosa ni sacarosa. La mayor parte de las *Salmonelas* producen H₂S. A menudo son patógenas para el ser humano o los animales cuando se ingieren (**Murray, P. 2014**).

Figura 5. Localizaciones de infección por las Enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia

Localización	Enterobacterias más frecuentes
Sistema nervioso central	<i>Escherichia</i>
Tracto respiratorio inferior	<i>Klebsiella, Enterobacter, Escherichia</i>
Torrente sanguíneo	<i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i>
Tracto digestivo	<i>Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia</i>
Tracto urinario	<i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella</i>

Fuente: García, A.P. y Rodríguez, F.M. 2002

2.8 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Los resultados de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos son valiosos para seleccionar los agentes quimioterapéuticos activos frente al microorganismo infeccioso. Son numerosos los trabajos realizados para conseguir unos métodos estandarizados y mejorar el valor predictivo clínico de los resultados. A pesar de estos esfuerzos, las pruebas in vitro son sencillamente una determinación del efecto del antibiótico frente al microorganismo en unas condiciones específicas. La selección de un antibiótico y el desenlace del paciente se ven influidos por una variedad de factores interrelacionados, como son las propiedades farmacocinéticas de los antibióticos, la toxicidad del fármaco, la enfermedad clínica y el estado médico general del paciente.

Así, algunos microorganismos que son «sensibles» a un antibiótico persistirán en la infección, y algunos microorganismos que son «resistentes» a un antibiótico serán eliminados. Por ejemplo, al requerirse oxígeno para que los aminoglucósidos penetren en la célula bacteriana, estos antibióticos son ineficientes a un absceso anaeróbico.

Igualmente, en la orina se pueden conseguir unas concentraciones muy elevadas de antibióticos; por tanto, las bacterias «resistentes» responsables de infecciones del tracto urinario pueden ser eliminadas por las concentraciones urinarias elevadas de algunos antibióticos. En el laboratorio clínico se llevan a cabo diversas formas para realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, en las cuales podemos encontrar: pruebas de dilución en caldo, pruebas de difusión en agar y las pruebas automatizadas.

CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODO.

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 AMBITO DE ESTUDIO

El área de estudio para esta investigación fue la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, los Laboratorios de Microbiología y Tecnología Médica de La Universidad Autónoma de Chiriquí. Localizada en la Barriada El Cabrero, distrito de David, provincia de Chiriquí, República de Panamá. En las coordenadas 82° 26'59' LW y 8°25'53' LN. Se encuentra a una altitud de 60 m s.n.m. y dispone de 9 hectáreas con 662 m de terreno. Este lugar registra una precipitación anual estimada en 2500 mm. Las áreas verdes de la institución cuentan con una diversidad de plantas que sirven de reservorio natural a la fauna.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

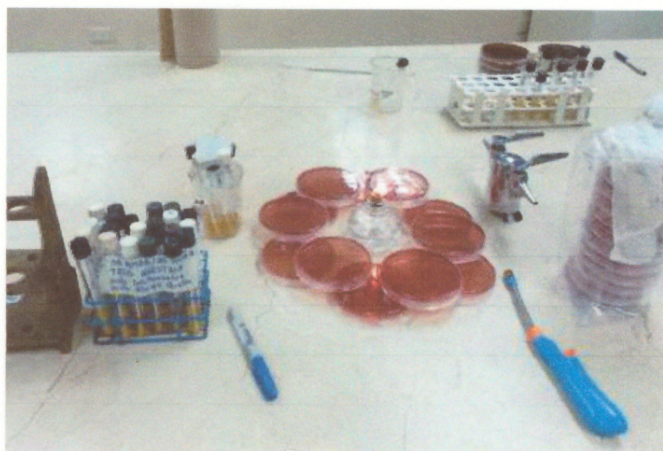
Según Nativí (2000), este estudio se considera descriptivo mixto, debido a que comprende dos variables, la cuantitativa y la cualitativa, que permitirá generalizar resultados en la toma de datos a través de un informe. También que nos ayuda a determinar las proporción de aquellos que están expuestos a los factores de riesgo de interés.

3.3 CULTIVO Y PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS.

- Para la toma de muestra se utilizó solución salina al 0.45 % para humedecer la punta del Culturette, un dispositivo estéril con punta de algodón, con más o menos de 4 a 6 pulgadas de largo.

- Se humedeció la punta del culturette que hace contacto con la superficie del área que nos interesa obtener (manubrio de las puertas, batas, manos, llave del grifo de agua, guantes, microscopios, mesa de trabajo, etc.), los microorganismos contaminantes.
- El Culturette con la muestra se introdujo en el cultivo líquido llamado Tioglicolato, este medio es cultivo enriquecido que debe estar en un tubo de vidrio de 20 ml con tapa rosca reutilizable que se pueda volver a esterilizar. A este tubo se le añade 5ml del medio de cultivo líquido con su indicador, donde se va a introducir el culturette con la muestra tomada del sitio que nos interesa y lo dejamos en la incubadora a 35°C, que es el equipo específico que nos proporciona la temperatura ideal para el crecimiento de microorganismos por un tiempo de 24 horas.
- Pasadas las 24 horas, se observó que el medio de cultivo líquido está turbio que representan las muestras de cultivos positivos o si todavía presenta el indicador que son las muestras de cultivos negativos. De estar turbio, realizamos un pase; que es solo tomar muestra de los cultivos positivos con un asa estéril desechable de 10ul, que es el volumen estandarizado que se necesita de muestra y sembrarla al medio selectivo (MacConkey), que es un medio sólido que solo crecen los bacilos o bacterias gramnegativas.

Figura 6. Cultivos positivos y negativos del medio líquido



Fuente: Ureña 2016

Una vez realizado el pase con el asa estéril desechable, los incubamos a 35°C por 24 horas, esperando el crecimiento de bacilos gramnegativos.

- Pasadas estas 24 horas, observamos los cultivos de Mac Conkey y si observó crecimientos de bacilos gramnegativos se les realiza un segundo pase a otro Mac Conkey, con la finalidad de tener una colonia aislada y pura; terminado este segundo pase lo incubamos a 37°C por otras 24 horas.

Figura 7. Pase a otros Mac Conkey para tener colonias puras y aisladas.



Fuente: Ureña 2016

- En estas otras 24 horas, debemos tener nuestra colonia aislada y pura, entonces procedemos a realizar las pruebas bioquímicas, para su identificación y sensibilidad antimicrobiana, que son las que nos van revelar cuales son las bacterias contaminantes y a que antibiótico son sensibles.
- Con estos resultados procedemos a realizar nuestro análisis estadístico, de las diferentes áreas de los laboratorios, donde los cultivos dieron positivos a estos bacilos.

3.4 IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS

Para el desarrollo de este estudio y lograr la identificación de nuestros bacilos gramnegativos, utilizamos técnicas manuales (tinción de GRAM) y automatizadas (Vitek).

3.4.1 TINCIÓN DE MUESTRA

La Tinción que utilizamos como apoyo y guía para nuestro estudio es la de Gram, consiste en tomar con un asa estéril desechable una porción de cultivo bacteriano y se depositará sobre una gota de agua y hacer un extendido sobre un portaobjetos. Se deja secar y fijar por calor. Se coloca sobre un soporte y cubrirlo con una solución de violeta cristal. Luego de 1 minuto lavar con agua potable, luego agregar solución de iodo de Gram que funciona como mordente. Después de 1 minuto lavar con agua potable; y se decolora con alcohol acetona por 10 segundos para eliminar el exceso de tinte y se lava con agua potable y cubrir con una solución de safranina durante 30 segundos, después lavar con agua y secar.

Se observará en el microscopio a través del objetivo de bajo aumento (10x) que es el objetivo que nos dará un enfoque global de nuestro frotis y una vez enfocado, mover el revólver para colocar el objetivo de (100x). Colocar una gota de aceite inmersión y se ajustará el enfoque mediante el tornillo micrométrico y se regulará la cantidad de luz por medio del diafragma. Las bacterias Gram-negativas que son las que nos interesan para nuestro estudio se tiñen de rojo anaranjado.

Figura 8. Tinción de GRAM, bacilos gramnegativos.



https://www.google.com/search?q=tincion+de+gram+bacilos+gram+negativos&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKewiVufGPxK3WAhUQx2MKHRPJDIHQ_AUICigB&biw=1366&bih=659#imgrc=hMQvpuGkLSheM

3.4.2 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE SISTEMA VITEK

Los cultivos positivos, puros y aislados, procedemos a la identificación y sensibilidad de los mismos. Tomamos un hisopo estéril desechable y con este una pequeña muestra de una colonia del medio de cultivo, característica de un bacilo gramnegativo y realizamos una suspensión con 0.45% de solución salina y la

llevamos a una concentración entre 0.5 a 0.7 macfarlan de la muestra con la ayuda de un densichek, que es el instrumento que nos va a corroborar que nuestra suspensión este en la concentración ideal y la que esta estandarizada para procesar muestras en el Vitek.

El Vitek es un equipo automatizado, que responde perfectamente a las necesidades de la bacteriología actual, tanto en el ámbito de la microbiología clínica y en la microbiología ambiental. La automatización de este equipo aporta mayor seguridad, suprimiendo las manipulaciones repetitivas de las muestras y la rapidez de respuesta permite obtener resultados fiables más rápidamente que con las técnicas manuales.

Figura 9. Analizador Automatizado microbiológica VITEK 2 Compact

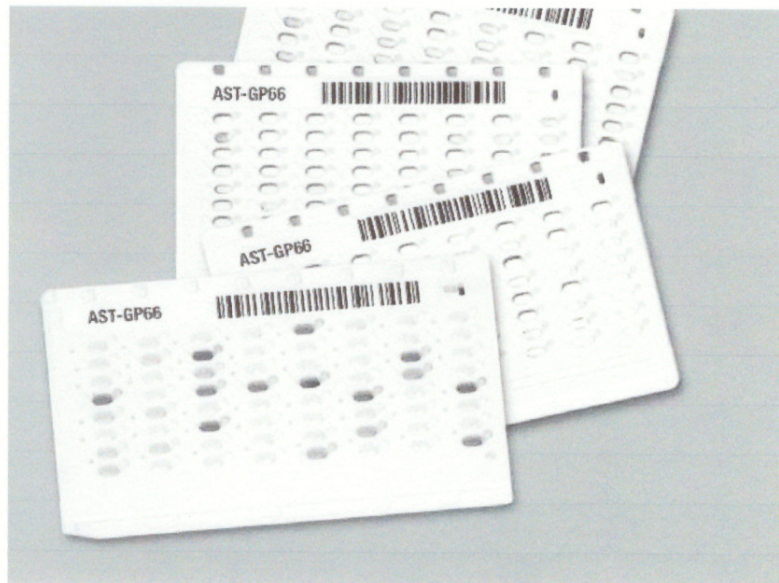


Fuente: <http://www.biomerieux.com.mx/microbiologia-industrial/vitekr-2-compact>

Una vez realizada esta suspensión con las colonias aisladas y puras de los cultivos positivos, procedemos a programar la muestra en nuestro equipo automatizado, donde utilizaremos tarjetas automatizadas con códigos de barras para su identificación y sensibilidad.

Una vez programadas las mismas en la computadora, se introducen al equipo para que empiece a realizar los procedimientos. Estas poseen unos pocillos donde en cada uno se va ir realizando las reacciones correspondientes para cada prueba. Las tarjetas del equipo automatizado al ser programadas, el equipo está constituido por un inoculador/sellador, un incubador/lector y un ordenador. El inoculador/sellador permite la inoculación de las tarjetas en pocos minutos. El incubador/lector asegura simultáneamente la incubación y la lectura de las tarjetas para una capacidad que varía de 32 a 480 tarjetas según el modelo.

Figura 10. Tarjetas de identificación y sensibilidad del Vitek.



Fuente: <http://www.biomerieux.com.mx/microbiologia-industrial/vitek-2-compact>

Después de 24 horas procedemos a revisar en la computadora los resultados que nos facilita. Al observar el mismo vamos a tener el porcentaje de identificación del microorganismos, si este porcentaje está arriba del 90% es considerado un identificación muy buena. Después analizamos los resultados de la sensibilidad, en la misma nos informa el grupo de antibióticos que podemos utilizar con nuestro microorganismo ya identificado, también nos muestra algún tipo de mecanismo de resistencia que este pueda tener. Una vez visto y analizado estos resultados procedemos a validar los mismos.

Figura 11. Reporte de identificación y sensibilidad del Vitek.

The screenshot displays the Vitek 2 compact software interface. The top bar shows the title 'View and Maintain Isolate Results'. The main window is divided into several sections:

- Left Panel:** A tree view showing a list of isolates. The selected isolate is 'en04-1, Esch. coli'.
- Top Right:** Patient Name: GONZALES, Antonio; Lab ID: en04; Organism: Esch. coli (99.9%); Review Status: To be reviewed; ID Confidence: Excellent identification; Analysis Status: 8.75 hr - Final.
- Middle Right:** AES Findings: Consistent; Phenotypes Selected for Review: BETA-LACTAMS (ESBL + IMPERMEABILITY (CEPHAMONYNS), EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE), AMINOGLYCOSIDES (HETEROGENEOUS (?+AAC(6)))
- Bottom Right:** A table of antibiotic sensitivity results.

Antibiotic	MIC	Inter.	Antibiotic	MIC	Inter.	Antibiotic	MIC	Inter.
+ Mecillinam		R	+ Cefamandole		R	Gentamicin	≥16	R
+ Amoxicillin		R	+ Cefuroxime		R	Netilmicin	≥32	R
Ampicillin	≥32	R	Ceftoxitin	8	I	Tobramycin	≥16	R
Amoxicillin/Clavulanic Acid	4	S	+ Ceftriaxone			+ Cinoxacin		R
+ Ampicillin/Sulbactam			Ceftazidime	≥64	R	Nalidixic Acid	≥32	R
+ Carbapenem		R	Ceftazidime	32	R	+ Piperidic Acid		R
Ticarcillin	≥128	R	+ Ceftriaxone			Ciprofloxacin	2	I
Ticarcillin/Clavulanic Acid	32	I	+ Ceftriaxone			+ Enoxacin		
+ Azlocillin		R	+ Cefepime			+ Moxifloxacin		
+ Meropenem		R	+ Aztreonam			Norfloxacin	2	S
Piperacillin/Tazobactam	54	S	Imipenem	≤0.5	S	Ofloxacin	4	I
+ Cefaclor		R	+ Meropenem		S	+ Pefloxacin		
Cefalotin	≥64	R	+ Panipenem			Nitrofurantoin	≥16	S
+ Cefazolin		R	Amikacin	4	I	Trimethoprim/Sulfamethoxazol	≥320	R

Fuente: www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-compact

El sistema **VITEK**, es un equipo de alta tecnología y eficacia que utiliza tarjetas miniaturizadas, con un gran nivel de automatización, sin reactivos adicionales, desechable, cerrado para una seguridad óptima del usuario y la utilización de códigos de barras insertado para máxima trazabilidad.

Aumenta la capacidad de dar los resultados en el mismo día; la tarjeta se lee cinéticamente cada 15 min para un tiempo óptimo de obtención del resultado y tiempo medio de obtención del resultado entre 6 y 8 horas.

Los resultados de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos están asociados con el sistema de interpretación **AES™**: un nivel óptimo de información para la mejor decisión clínica. Valores de CMI (Concentración mínima inhibitoria), un estándar universal que permite la detección de nivel bajo de resistencia, resultados orientados hacia la detección de mecanismos de resistencia incluyendo los fenotipos inusuales, también presenta resultados de antibióticos deducidos para cumplir con requerimientos clínicos específicos y una validación automática de resultados, mediante la constante verificación de las pruebas de identificación y sensibilidad.

Figura 12. Opciones de reportes del equipo automatizado Vitek. (Puntos de cortes de la CMI).

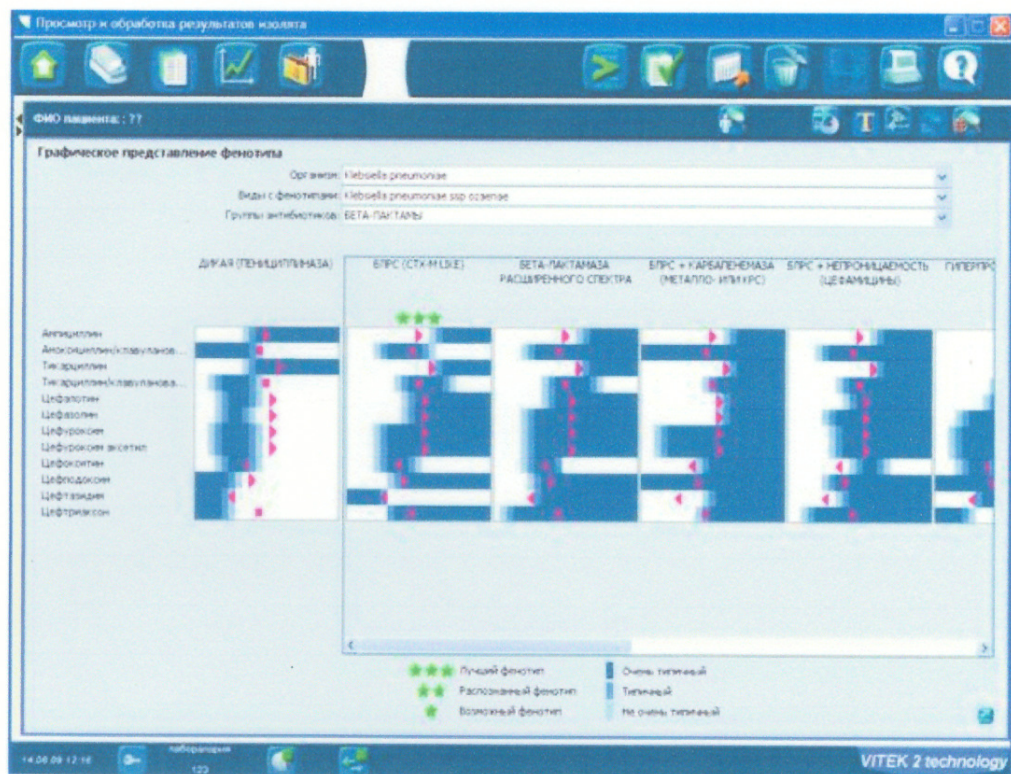
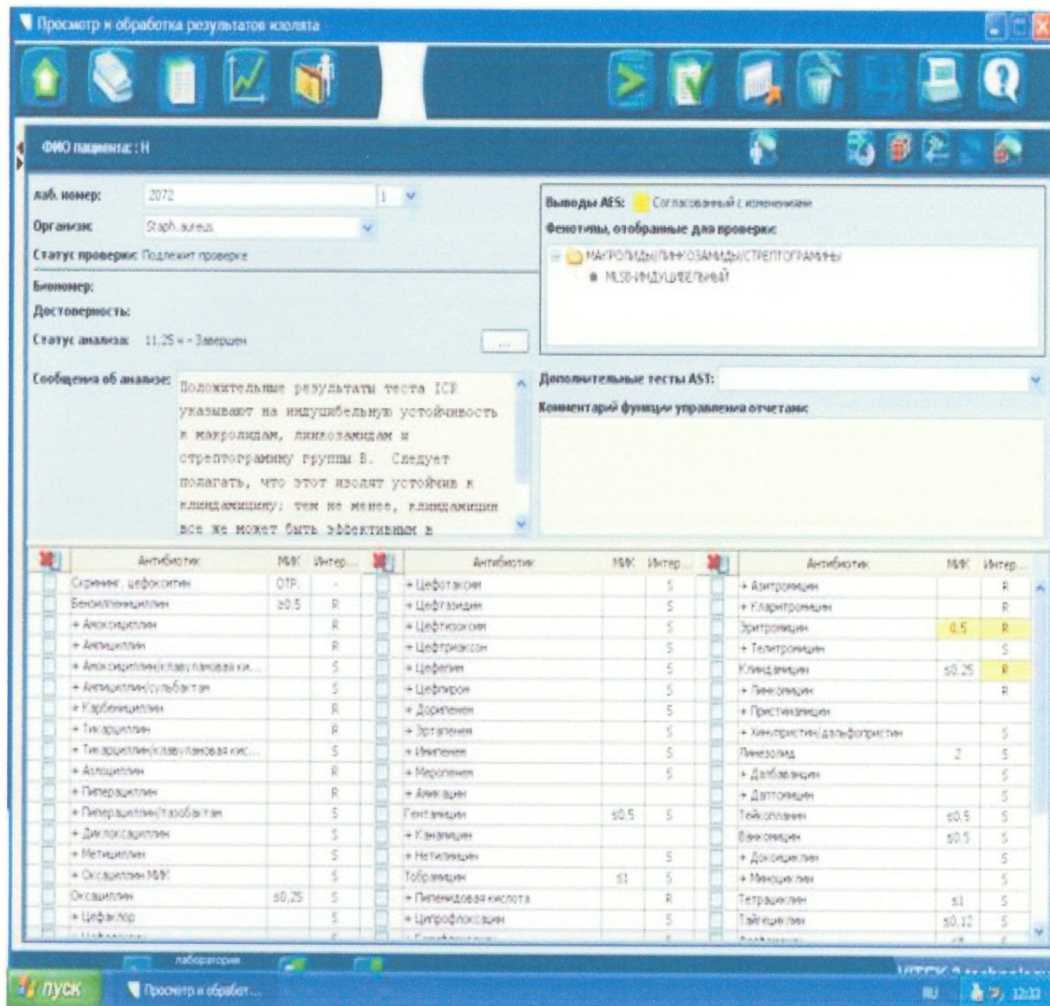


Figura 13. Opciones de reportes del equipo automatizado Vitek. (Alarmas de los mecanismos de resistencias).



Reporte con opciones de alarmas de los mecanismos de resistencias del microorganismo y opciones ATB para su reporte.

Fuente: www.biomerieux.com.co/diagnostico-clinico/vitek-2-compac

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION

La identificación de bacterias o de microorganismos que afectan la salud de los estudiantes y de los profesores en los laboratorios de investigación o prácticas docentes es muy importante, ya que ésta juega un papel importante en la vida de las personas, y así poder tomar las medidas correctivas para evitar la contaminación de nuestros laboratorios.

En los resultados obtenidos de las muestras analizadas, se observó que en las mesas de trabajo, grifos de agua, microscopios, batas de laboratorio, manubrios de las puertas de laboratorio, las manos y los guantes, más del 50% de estas mostraron evidencia de microorganismo contaminantes en los laboratorios y que estos pueden ser causales de patologías.

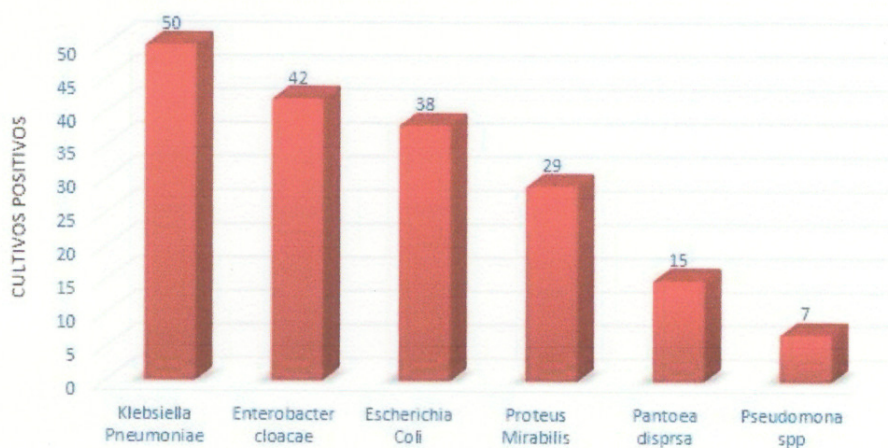
Se tomaron 226 muestras de las áreas de interés de estudios de los laboratorios, de las cuales 181 resultaron positivas. El mayor número de aislamientos de bacterias se encontró en las mesas de trabajo, con una cantidad de 56 cultivos positivos y los menores aislamientos fueron en manos y las incubadora, esta última con 2 cultivos positivos (Ver Grafica 1 y Tabla 1 anexos).

4.1 CULTIVOS POSITIVOS

Cuadro 3. Microorganismos encontrados en los laboratorios de Tecnología Médica y Microbiología.

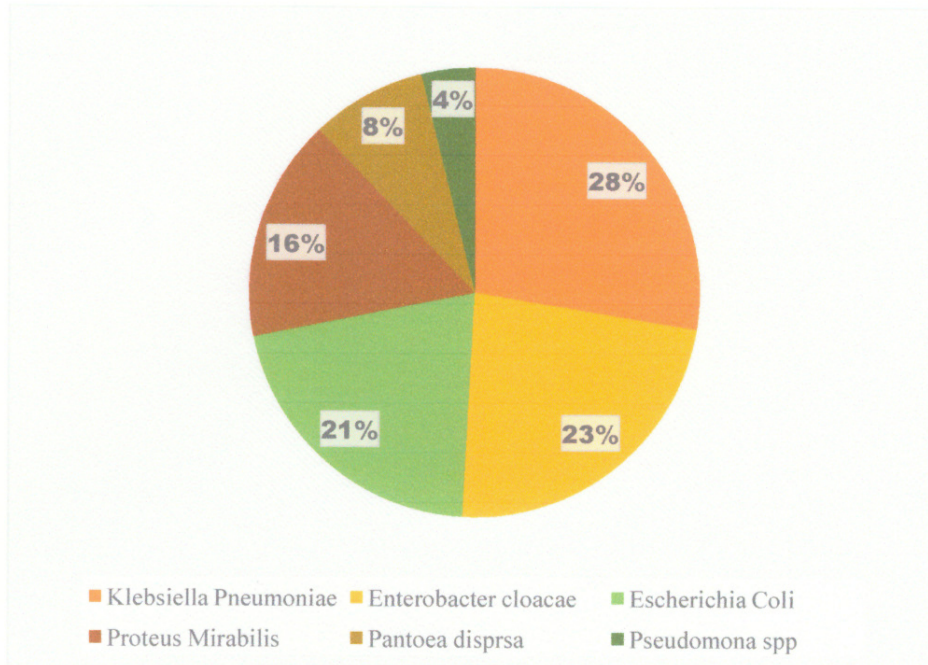
Microorganismos	Perilla de las puertas	Mesas de trabajo	Guantes	Manos	Microscopios	Grifo del agua	Incubadora	Bata de laboratorio	Total
<i>K. pneumoniae</i>	10	13	10	7	4	3	0	3	50
<i>E. cloacae</i>	11	9	4	0	4	7	1	7	42
<i>E. coli</i>	6	13	7	3	3	0	1	6	38
<i>P. mirabilis</i>	9	12	0	0	0	3	0	5	29
<i>P. dispersa</i>	4	6	3	0	0	0	0	2	15
<i>Pseudomona spp</i>	0	3	2	0	0	1	0	1	7
Total	40	56	26	10	11	14	2	24	181

GRAFICA 1. TOTAL DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN CULTIVOS POSITIVOS



La especie bacteriana que presentó el mayor número de aislamientos fue *Klebsiella pneumoniae*, con 50 aislamientos, seguido de *Enterobacter cloacae* con 42 aislamientos, 38 de *Escherichia coli*, 29 de *Proteus mirabilis*, 15 de *Pantoea dispersa* y 7 aislamientos del género *Pseudomonas*, en los cuales no se identificaron las especies (Ver Grafica 1).

GRAFICA 2. PORCENTAJE DE MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS EN LOS LABORATORIOS



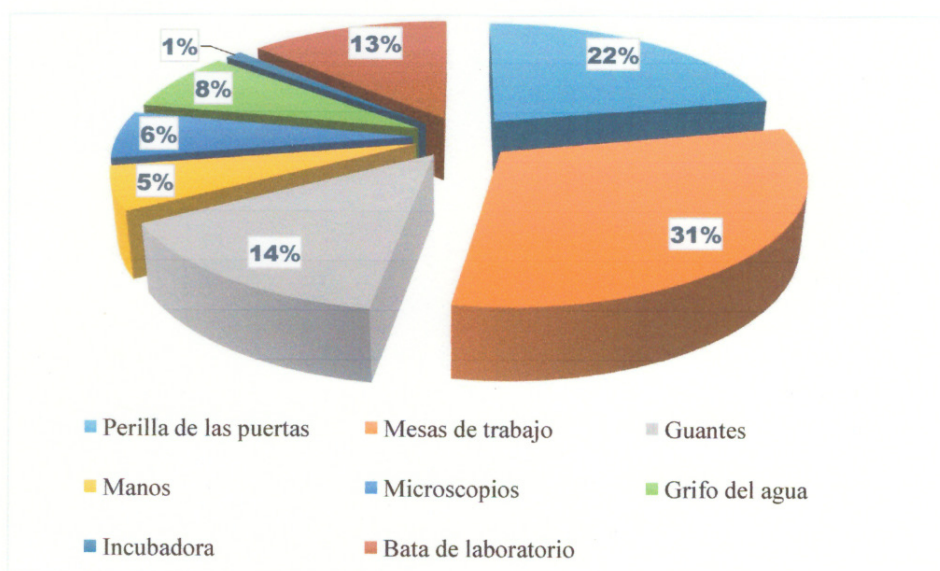
Según *Lee et al (2016)*, las perillas de las puertas es el área donde se puede encontrar mayor cantidad de microorganismo a diferencia de esta investigación donde el área de predominio de bacterias fue en mesas de trabajo de laboratorio. Estos autores aislaron en mayor proporción cocos grampositivos, mientras que en esta investigación predominaron bacilos gramnegativos de la especie *K. pneumoniae*.

4.2 SITIOS DE MUESTREO.

Según el sitio de muestreo se pudo observar que las mesas de trabajo presentaban mayor cantidad de aislados bacterianos con 31% del total de muestras positivas, seguido de

perillas de la puertas 22%, batas de laboratorio 13%, guantes 14%, grifos de agua 8%, microscopios 6%, manos 5% e incubadora un 2% (Ver Grafica 3).

GRAFICA 3 PORCENTAJE DE CULTIVOS POSITIVOS DE ACUERDO AL SITIO DE MUESTRA



Según *A. Álvarez y S. Campuzano (2003)*, en las área de manipulación de duchas y cabinas, se encuentran en mayor proporción a microorganismos gramnegativos, con predominancia de *K. pneumoniae* y *E. coli*, datos que coinciden con nuestros resultados, en los cuales al igual que estos autores se pudo identificar los mismos microorganismos, pero a diferencia de que en esta investigación se aislaron de mesas de trabajo y perillas de puertas.

4.3 SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS

Sabemos también que al encontrar microorganismos causantes de patologías y que a su vez perjudican la salud de las personas, tenemos que tener en cuenta que se pueden combatir con antibióticos para su eliminación. Una vez encontrados los microorganismos en las áreas de estudios, pudimos obtener resultados de la sensibilidad a los antibióticos que a estos son susceptibles y saber si pueden presentar algún tipo de mecanismos de resistencia.

Cuadro 4. Porcentaje de sensibilidad en Bacterias gramnegativas a los Antibióticos utilizados.

Microorganismo	Ampicilina	Ceftriaxone	Ciprofloxacina	Nitrofurantoina	Trimetropin/ sulfa	Amoxi/acid Clav.	BLEE+
<i>K. pneumoniae</i>	90%	85%	40%	35%	55%	20%	10%
<i>E. cloacae</i>	40%	67%	29%	95%	90%	7%	0%
<i>E. coli</i>	92%	14%	30%	44%	39%	48%	8%

Alonso Espadale R. et al, 2006 señala que los microorganismos encontrados en los diferentes sitios de donde se recolectaron las muestras, siendo estas las áreas más contaminadas y que pueden causar daño a la salud, también señala que los laboratorios, por su propia naturaleza, son áreas donde se manipula muestra biológica potencialmente peligrosa y donde existe una mayor probabilidad de contagio. El estudio señala los microorganismos que pueden adquirir las personas que se encuentran realizando alguna actividad en el laboratorio. También han puesto de manifiesto la importancia no solo de las que se producen de forma accidental sino de las que se deben a la manipulación diaria de muestras potencialmente peligrosas y contagiosas. En este sentido interesa establecer procedimiento de seguridad específicos para cada agente biológico a fin de minimizar la exposición y garantizar un ambiente de trabajo seguro.

Una identificación de un microorganismo, nos interesa saber a qué antibiótico es sensible, *J.A. Martínez y F. Sánchez, 2007* nos enseñan en su estudio los diferentes mecanismos de resistencia que pueden presentar los mismos, para así saber qué tipo de antimicrobiano se puede usar, los mismo nos indica *Nancy A. Amaya D. 2009*, en sus estudios si se encontraron resistencia a un grupo de antibióticos. En este trabajo tomamos en consideración seis antimicrobiano, que son de uso común, ya que resultan muy efectivos en su tratamiento siendo estos efectivos en la gran mayoría de las bacterias encontradas, pero también encontramos un hallazgo, donde tres microorganismos que presentaron resistencia a un grupo de antibióticos.

Los resultados de esta investigación concuerdan con la identificación a los antimicrobianos así como a la alta sensibilidad a las cepas de enterobacterias identificadas: ácido nalidíxico, Ceftriaxona, Ciprofloxacino y Sulfametoxazol-Trimetoprim documentada en el estudio por *SOUZA-JÚNIOR et al., (2008)*, en los sitios o lugares donde se obtuvieron estos microorganismos. Solo que en el nuestro, si pudimos identificar el mecanismo de resistencia en algunas enterobacterias

CAPITULO V CONSIDERACIONES FINALES

5.1 CONCLUSIONES

- Los laboratorios donde se manipulan muestras infectocontagiosas, debe ser consideradas de alto riesgo para todas las personas (docentes o estudiantes) que se encuentran en el laboratorio.
- Se encontró que la *Klebsiella pneumoniae* es el bacilo gramnegativo que más puede contaminar las áreas de los laboratorios.
- Toda las muestra que se utilicen ya sea fluidos, muestras sólidas y cultivos microbianos, deben ser considerados como infecciosos y deben ser manipulados bajo determinadas medidas de bioseguridad.
- La gran mayoría de las actividades que se realizan en los laboratorio no hay una limpieza previa y después de la misma.
- El equipo automatizado Vitek comparándolo con otros equipos semiautomatizados, pose mayor sensibilidad y especificidad al momento de estudiar algún microorganismo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Llevar un control de calidad y normas de bioseguridad, que tiene que ver con la manipulación y el transporte de muestra que pueden ser potencialmente patógenas.
- Se deben poner en práctica medidas sanitarias y de bioseguridad para prevenir la contaminación en las diferentes áreas.
- No se debe permitir a las personas que están dentro de los laboratorios manipulando muestras o fluidos contaminantes o que puedan ser riesgosa para la salud, sin las debidas mínimas barreras de protección y precauciones higiénicas estrictas.
- La universidad es el sitio ideal para lograr la capacitación y formación adecuada de los profesionales de la salud, en este caso, de las bacteriológicas, en cuanto al manejo de material que genera riesgo biológico.
- Preparar a la comunidad universitaria para que se comprometan en el autocuidado y que puedan liderar campañas de prevención para evitar contaminaciones.
- La incubadora que se utiliza para dejar los cultivos en su temperatura, necesita de una batería de respaldo, ya que al faltar la luz y al no tenerla, podemos perder nuestros cultivos o alterar el crecimiento bacteriano.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Amaya D, N., (2009), *Resistencia Bacteriana en unidad de cuidados intensivos adultos de la Clínica Medilaser, Neiva-Colombia, entre enero y diciembre de 2008*. Revista Facultad de Salud - RFS Julio – Vol 1 N°2 Diciembre 2009, Universidad Surcolombiana, Neiva – Huila, 32 – 37pg

Alonso E, R.M. y Constans Aubert, A. (2000): *Prevención del Riesgo biológico en el laboratorio Trabajo con bacterias*. México DF. Revisado el 20 de enero de 2017

Álvarez de Weldefort, A. y Campuzano, S. E. (2003) *Control de la contaminación biológica en los laboratorios de docencia de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca en Bogotá*, Colombia. Disponible en: scampuzano@hotmail.com/scampuzano@unicolmayor.edu.com Revisado el 15 de noviembre de 2016.

Araque M, Araujo E, Longa A, Nieves B, Ramírez A y Sánchez K., (2006). *Manual práctico de bacteriología clínica*. Primera edición 2006. Universidad de los Andes.

Ocaña C, M., Rocchi, A., Gasparotto, I., Conrero, M., Navarro, S., Factorovich, C., Albrecht, A. (2007). *Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario*. Revista argentina de microbiología versión On-line ISSN 1851-7617. Fecha de consulta 29 de enero 2017.

BOPP, C.; WELLS, J. 2003. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), World Health Organization (WHO). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de*

Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo.
WHO/CNEI/CDC/USAID. Atlanta, USA.

Briceño I; Manuel S;. 2006. Revista de Medicina Interna y Medicina Crítica, *Resistencia Bacteriana en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario de los Andes*, Pag 30-42. Fecha de Consulta 20 de marzo 2017.

Craig, WA., 2003. *Farmacodinamia básica de antibacterianos con clínica aplicaciones al uso de β -lactamasa, glicopéptidos y linezolid.* North Am. 2003; Pag 479 - 502.

Ed. García Caballero, J. 2003. *Comisión de Infecciones y Políticas antimicrobianas del Hospital Universitario La Paz.* Madrid 2003.

Ed. García Caballero, J. 2003. *Guía para la prevención y control de la infección en el Hospital Universitario la Paz.* Madrid 2003.

Drummond Salazar L., (2004). *Detección de Resistencia Bacteriana en Cepas Gramnegativas en las Unidades de Cuidados Intensivos del Hospital Roosevelt.* Tesis presentada al Departamento de Microbiología e Inmunología. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

Drummond Salazar L., (2004). Tesis presentada al Departamento de Microbiología e Inmunología (2004): *Manual de laboratorio para bacteriología y micología.* Facultad de

Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

Eliecer M, Domínguez MA, Ezpeleta C, Padilla B, Ramírez de Arellano E, Martínez-Martínez L., (2008). Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias Resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enfermedades Infecciosas en Microbiología Clínica* 2008. Barcelona, España. www.elsevier.es

Elguera F., Solís V., J. y Neyra A., L., (2006). Estudio bacteriológico de pacientes con pie diabético infectado en el Hospital Arzobispo Loayza. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.* 19(1) 2006, 5 – 8pg. www.medicosdelperu.com.pe/.

Ezpeleta B. C., Barrios A. J.A. y Delgado I., García C. A., (2013). *Control microbiológico ambiental. Enfermedades Infecciosas Microbiológicas Clínicas.* España 31(6):396–401 pg.

Fernández G, M. (2008). *Infecciones producidas por Bacterias Gramnegativas.* División de Enfermedades Infecciosas, Servicio de Medicina Interna. Universidad Autónoma de Madrid. Fecha de consulta 20 de noviembre de 2016.

Ibarra Arias, M. (2007). Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Medicina y Psicología. *Manual de Microbiología Médica.* Fecha de consulta 23 de enero de 2017.

Jawetz, Melnick y Adelberg. *Microbiología Médica*, 25 Edición 2011. McGraw Hill interamericana editores, s.a. de c.v.

Ryan K. J., y Ray C. G., *Microbiología Medica*, Quinta edición 2005. McGraw Hill interamericana editores, s. a. de c. v.

Lugtenberg and Kamilova, 2009 B. Lugtenberg, F. “Kamilova Plant-growth-promoting rhizobacteria *Annu. Rev. Microbiol.*, 63 (2009), pp. 541–556

Madigan M. T., Martinko J. M. y Parker J., Brock. *Biología de los Microorganismos*, 10ª Edición 2002, Ed. Pearson, Prentice Hall.

Martínez J.A. y F. Sánchez. (2007). Mecanismo de acción de los antibióticos. jano 28-34 pg. ON-LINE. Disponible en: www.doyma.es/janoonline Revisado 20 de octubre 2016.

Murray, P.R. (Ed). *Manual de Microbiología Clínica*, sexta edición 1995. Sociedad Americana de Microbiología, Washington D.C.

Neyra L., (2000). Estudio clínico y metabólico del pie diabético en pacientes de consulta externa en el Hospital Arzobispo Loayza, Lima. Junio 2000-Mayo 2002. Tesis para optar el grado de Magíster en Medicina. Lima. Perú 2003.

Padilla Ortega B., Grande Fariñas F. J., Jimeno Maestro J y Martin M., (2008). Higiene de manos, “Guía de Buenas Practicas, Prevención y Control de la Infección Nosocomial”. Pag. 47 – 54. Fecha de consulta 12 de noviembre de 2016.

Palomino C, E.J. (1995), *Introducción a la Microbiología Ambiental*. Organización Panamericana de la Salud. 18-37 pg.

Patrick R. Murray, Ken S. Rorethal y Michael P. Aller, *Microbiología médica* 7.ª Edición 2014. Editora Elsevier España, S.L.

Ramírez Fernández R., Robustillo Rodela A. y Sainz de los Terreros Soler L., (2008). Promoción de la Calidad, “Guía de Buenas Prácticas, Prevención y Control de la Infección Nosocomial”. 8 -14pg, Fecha de consulta 12 de noviembre de 2016.

Rivera C. L., Ortegón, C., Luis Hernando MSC, Estrada, C. Gloria Phd, Granja, S. Yury Tatiana MSC, Núñez y R. José Miguel, (2013). Aislamiento, Identificación y Patrón de sensibilidad antimicrobiana de *salmonella* spp. en primates en cautiverio. Revista colombiana ciencia Animal. 5(1):131-144 pg. Revisada 16 de septiembre de 2016.

Rojas N., Chávez E. y García F. (2006). Bacteriología Diagnostica. Universidad de Costa Rica. Facultad de Microbiología. Pag. 18 – 55.

Solar Salaverri L., (2006). *Infección por Microorganismos Gram negativos*. Resistencia y Perspectiva terapéutica. Servicio de Infectología. Hospital Pediátrico Universitario Centro Habana, Cuba.

Soriano A, García S, Bori G, Almela M, Gallart X, Macule F, et al, (2006). Tratamiento de la infección post-quirúrgica aguda de la artroplastia articular. *Clínica Microbiológica Infect.* 2006; 12: 930-3.

Yi A, Echevarría J, Llanos F., (1997). *Vigilancia epidemiológica de la susceptibilidad de las bacterias Gram negativas a aminoglucósidos.* *Bol Soc Per Med Int* 1997; 10: 46-51.
www.medicosdelperu.com.pe/

OTRAS CONSULTAS BIBLIOGRÁFICAS

Centro de Control y Prevención de Enfermedades. Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina, 4ta Ed. Washington: Centro de Control y Prevención de Enfermedades; 1999. URL disponible en: http://www.cdc.gov/od/ohs/pdffiles/bmbl4_spanish.pdf

Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo, Nota Tecnicas de Prevención (376, 447, 468, 571 y 572) Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Barcelona 2001.

Universidad Politécnica de Madrid, Servicio de Prevención de Riesgos Laborales, prevencion.riesgoslaborales@upm.es, Madrid 2006.

Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín, que confiere el título de Médico y Cirujano, Guatemala 1999.

Guía de Higiene Hospitalaria. Hospital Clínico San Carlos. Ed. Math Printer SL, 2004.

Capítulo 10: Higiene de manos y uso adecuado de guantes. Medidas estándar. Pag. 87 –
94.

ANEXOS

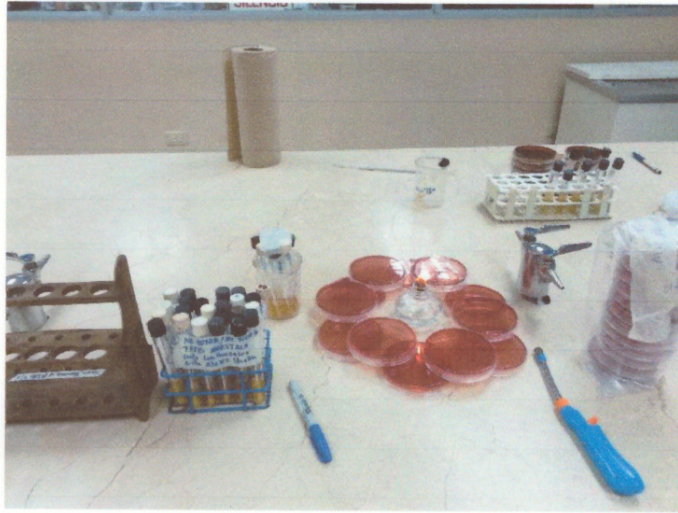
- **Figura 14. Lectura de los platos, en la càmara**



- **Figura 15. Realizando los pases de pureza de los platos positivos**



- **Figura 16. Tioglicolatos positivos y negativos**



- **Figura 17. Rotulando las muestras sembradas en los platos.**



