



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE ODONTOLOGÍA

TESINA DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
ODONTÓLOGA

TEMA:

**“ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA FLORA ORAL EN
NEONATOS MEDIANTE PARTO VAGINAL EN EL HOSPITAL
PROVINCIAL DOCENTE DE RIOBAMBA, EN EL PERÍODO MAYO-
OCTUBRE DEL AÑO 2013”**

AUTORA:

Rosa Cemira Bonifaz Damián

TUTORA:

Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde

RIOBAMBA - ECUADOR

Enero - 2014

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

El tribunal de defensa privada conformada por la Dra. Kathy M. Llori O., Presidente del tribunal; Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde, miembro del tribunal y la Lic. Mónica del Pilar Santillán Escobar, miembro del tribunal; certificamos que la señora Rosa Cemira Bonifaz Damián, con cédula de identidad N° 060324322-1, egresada de la carrera de Odontología de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), se encuentra apta para el ejercicio académico de la defensa pública de la tesina para la obtención del título de Odontóloga con el tema de investigación: **“ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA FLORA ORAL EN NEONATOS MEDIANTE PARTO VAGINAL EN EL HOSPITAL PROVINCIAL DOCENTE DE RIOBAMBA, EN EL PERÍODO MAYO-OCTUBRE DEL AÑO 2013”**.

Una vez que han sido realizadas las revisiones y correcciones sugeridas por el tribunal para la defensa pública de la tesina.

Riobamba, 6 de Enero de 2014

Dra. Kathy M. Llori O.
Presidenta del tribunal

Dra. Jenny A. Erazo V.
Miembro del tribunal

Lic. Mónica del Pilar Santillán E.
Miembro del tribunal

FICHA TÉCNICA

Título de la tesina: Estudio microbiológico de la flora oral en neonatos mediante parto vaginal en el Hospital Provincial Docente de Riobamba, en el período Mayo-Octubre del año 2013.

Organismo responsable: Universidad Nacional del Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Odontología.

Autora: Rosa Cemira Bonifaz Damián.

Directora: Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde.

Lugar de realización: Hospital Provincial General Docente de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

Beneficiarios: Mujeres en labor de parto y neonatos.

Tiempo estimado de realización: 6 (Seis) meses.

Costos: USD 900 (Dólares Estadounidenses Novecientos)

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, Rosa Cemira Bonifaz Damián portadora de la cédula de identidad N° 060324322-1, declaro ser responsable de las ideas, resultados y propuestas planteadas en este trabajo investigativo y que el patrimonio intelectual del mismo, pertenece a la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH).

.....

Rosa Cemira Bonifaz Damián

ACEPTACIÓN DE LA TUTORA

Por medio de la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Tesina de Grado presentado por la señora **ROSA CEMIRA BONIFAZ DAMIÁN** para optar al título de **ODONTÓLOGA**, y que acepto asesorar a la estudiante en calidad de tutora, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 9 de Julio de 2013.

Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios porque supo guiarme por el camino del bien y ayudarme a no decaer en los obstáculos que se me presentaron en el transcurso de mi carrera.

A la Universidad Nacional de Chimborazo por formarme y poder prepararme en la Carrera de Odontología.

A la Dra. Jenny A. Erazo V. por haber confiado en mi persona, por la paciencia y por la orientación de este trabajo.

Rosa C. Bonifaz D.

DEDICATORIA

Esta tesina la dedico a mis padres, a mi hijo Alan quien fue el principal motivo para seguir adelante en mis estudios, a mi esposo y a toda mi familia quien con su apoyo, consejos y amor incondicional, estuvieron siempre a mi lado.

A los docentes que nos brindaron sus sabios conocimientos, fortaleciendo mi formación como estudiante universitaria, durante este largo camino.

Rosa C. Bonifaz D.

RESUMEN

Antes del parto, el feto vive en un ambiente estéril, rodeado del líquido amniótico y la placenta; es en el momento del nacimiento, cuando se pone en contacto primero en el canal del parto, y posteriormente en el ambiente que le rodea, con los distintos microorganismos que van a colonizar su piel, nariz, cavidad oral y otras regiones corporales. La colonización únicamente puede ser llevada a cabo por microorganismos pertenecientes a la microbiota humana y que lógicamente proceden de la microbiota de las personas que están en contacto con el recién nacido.

Estudios demuestran que el parto vaginal no es estéril y se suman a esto, patologías como: la vaginitis bacteriana, sepsis neonatal, ruptura prematura de membrana.

En la reciente investigación se indagaron las patologías que influyen en la formación temporal de la microbiota oral del recién nacido y sus consecuencias.

Se estudiaron a 15 neonatos mediante parto vaginal, mediante hisopado de la cavidad bucal, atendidos en el Hospital Provincial General Docente Riobamba.

Se tomaron las muestras, en el momento del alumbramiento, a las 12 horas y a las 24 horas. El método de análisis se realizó en los siguientes medios de cultivos como son: Agar chocolate, Agar sangre, Agar MacConkey. Luego de 72 horas de incubación a 35 °C se observó la aparición de *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus viridans*.

Al momento del parto el 13% de los neonatos, presentaban microbiota oral, luego a las 12 horas el 53% de los recién nacidos ya poseen microbiota oral temporaria y a las 24 horas el 100% ya presentan microbiota oral con predisposición a futuras patologías. En conclusión, son factores de riesgo la poca higiene de las personas como resultante de la transmisión de microorganismos al momento de recibir al recién nacido, el contacto de la piel y la boca de la madre y los familiares.

ABSTRACT

Before birth , the fetus lives in a sterile environment , surrounded by the amniotic fluid and the placenta is at the moment of birth, when contacted first in the birth canal, and then in the surrounding environment , with different microorganisms that colonize the skin, nose, oral cavity and other body regions. Colonization can only be carried out by microorganisms belonging to the human microbiota and logically derived from the microbiota of the people who are in contact with the newborn.

Studies show that unempyment is not sterile vaginal and add to this, diseases such as bacterial vaginosis, neonatal sepsis, premature rupture of membrane.

In recent research the diseases that affect the temporary formation of the oral microbiota of the newborn and its consequences were investigated.

They studied 15 infants delivered vaginally by swabbing the oral cavity treated at the Provincial General Teaching Hospital Riobamba.

Samples at the time of delivery, 12 hours and 24 hours were taken. The method of analysis was performed on the following culture media such as: chocolate agar, blood agar, MacConkey Agar. After 72 hours incubation at 35 ° C the occurrence of *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginosis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus viridans* was observed.

At birth 13% of the infants had oral microbiota, then at 12 hours 53% of newborns already have temporary oral microbiota and 24 hours and 100% oral microbiota have predisposed to future conditions. In conclusion, risk factors are poor hygiene of people as a result of transmission of microorganisms at the time of the newborn, the contact of the skin and the mouth of the mother and family.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Co	Cobalto
Cu	Cobre
EGB/SGB	Estreptococo/Streptococcus del Grupo B
ETS	Enfermedades de Transmisión Sexual
Fe	Hierro
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
ITS	Infecciones de Transmisión Sexual
K	Potasio
Mb	Molibdeno
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
pH	Potencial de Hidrógeno
RN	Recién Nacido
RPM	Ruptura Prematura de Membrana
SOD	Superóxido dismutasa
UCIN	Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
UFC	Unidades de Formación de Colonias
VB	Vaginosis Bacteriana
Zn	Cinc

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	I
Certificado de aprobación.....	III
Ficha técnica.....	IV
Derechos de autoría.....	V
Aceptación de la tutora.....	VI
Agradecimiento.....	VII
Dedicatoria.....	VIII
Resumen.....	IX
Abstract.....	X
Índice de abreviaturas.....	XI
Índice general.....	XII
Índice de figuras.....	XVIII
Índice de fotografías.....	XIX
Índice de gráficos.....	XXI
Índice de imágenes.....	XXII
Índice de mapas.....	XXIII
Índice de tablas.....	XXIV
Introducción.....	1

CAPÍTULO I

1.	PROBLEMATIZACIÓN.....	3
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.	FORMULACION DEL PROBLEMA.....	5
1.3.	OBJETIVOS.....	5
1.3.1.	Objetivo general.....	5
1.3.2.	Objetivos específicos.....	6
1.4.	JUSTIFICACION.....	6

CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO.....	7
2.1.	POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	7
2.1.1.	Marco institucional.....	9
2.2.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	10
2.2.1.	Bacterias.....	11
2.2.2.	Estructuras de la célula bacteriana.....	13
2.2.3.	Bacterias Gram positivas.....	14
2.2.4.	Bacterias Gram negativas.....	15
2.2.5.	Infección adquirida en el canal del parto.....	17
2.2.5.1.	Biota vaginal.....	18
2.2.5.2.	Prevención de enfermedades.....	19
2.2.6.	Embarazo y Estreptococo del grupo B (EGB).....	19
2.2.6.1.	Qué es el EGB.....	20
2.2.6.2.	Portadora del EGB.....	21
2.2.6.3.	Cómo se detecta el EGB.....	21
2.2.6.4.	Transmisión del EGB al recién nacido.....	21
2.2.6.5.	Tratamiento del EGB.....	22
2.2.6.6.	Efectos en el recién nacido.....	23
2.2.6.7.	Situaciones especiales.....	24
2.2.6.8.	Detección de portadoras.....	25
2.2.7.	Prevención de sepsis neonatal.....	25
2.2.8.	La microbiota oral es compleja.....	27
2.2.9.	Enfermedad por Estreptococos del grupo B.....	29

2.2.10.	Infección por Escherichia coli.....	29
2.2.11.	Staphylococcus aureus.....	30
2.2.12.	Proteus.....	31
2.2.13.	Meningitis.....	32
2.2.14.	Candidiasis.....	33
2.2.15.	Vaginosis bacteriana.....	34
2.2.16.	Corioamnionitis.....	35
2.2.17.	Ruptura prematura de membrana.....	35
2.2.17.1.	Etiología.....	36
2.2.17.2.	Diagnóstico.....	37
2.2.17.3.	Tratamiento.....	37
2.2.17.4.	Complicaciones.....	38
2.2.18.	Virus del papiloma humano y condilomas.....	39
2.2.19.	Condilomas	39
2.2.20.	Otros microorganismos.....	40
2.2.20.1.	Enterobacterias.....	40
2.2.20.2.	Infección causada por Ureaplasma urealyticum.....	41
2.2.20.3.	Microorganismos de ETS.....	41
2.2.21.	Aspectos anatómicos y fisiológicos de la vagina.....	42
2.2.22.	Agentes etiológicos.....	43
2.2.23.	Factores de riesgo.....	44
2.2.24.	Cuadro clínico.....	45
2.2.25.	Complicaciones.....	45
2.2.26.	Diagnóstico.....	46
2.2.27.	Tratamiento.....	48
2.2.28.	Amnionitis.....	49
2.2.29.	Concepto y expresión matemática del crecimiento bacteriano.....	49
2.2.30.	Concepto de muerte de un microorganismo.....	54
2.2.31.	Qué necesita un microorganismo para crecer.....	54
2.2.32.	Detección y medida del crecimiento.....	56
2.2.32.1.	Recuento directo.....	56
2.2.32.2.	Medida de la masa de células.....	56
2.2.32.3.	Recuento de viables.....	57

2.2.33.	Ciclo de crecimiento de poblaciones.....	58
2.2.34.	Factores físicos y químicos que influyen en el crecimiento...	60
2.2.35.	Multiplicación de los virus.....	66
2.2.36.	Placas de Agar.....	67
2.2.37.	Tipos.....	68
2.2.37.1.	Agar sangre.....	69
2.2.37.2.	Agar chocolate.....	69
2.2.37.3.	Agar Thayer-Martin.....	69
2.2.37.4.	Agar TCBS.....	70
2.2.38.	Medios bacteriológicos de usos general.....	70
2.2.38.1.	Agar bilis esculina con azida.....	70
2.2.38.2.	Agar CLED.....	70
2.2.38.3.	Agar entérico Hektoen.....	70
2.2.38.4.	Agar McConkey.....	71
2.2.38.5.	Agar Manitol salado.....	71
2.2.38.6.	Agar Mueller-Hinton.....	71
2.2.38.7.	Agar nutritivo.....	72
2.2.38.8.	Agar Önoz.....	72
2.2.38.9.	Agar Feniletíl alcohol.....	72
2.2.38.10.	Agar R2A.....	72
2.2.38.11.	Agar Tripticasa soya (TSA).....	72
2.2.38.12.	Agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato.....	73
2.2.38.13.	Agar Cetrimida.....	73
2.2.38.14.	Agar Tinsdale.....	73
2.2.38.15.	Agar glucosado de Sabouraud.....	73
2.2.38.16.	Agar infusión cerebro corazón.....	74
2.2.38.17.	Agar papa dextrosa.....	74
2.2.38.18.	Agar extracto de malta.....	74
2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	74
2.4.	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	77
2.4.1.	Hipótesis.....	77
2.4.2.	Variables.....	77
2.4.2.1.	Variable dependiente.....	77
2.4.2.2.	Variables independientes.....	77

2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	78
 CAPÍTULO III	
3. MARCO METODOLÓGICO.....	79
3.1. MÉTODOS.....	79
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	79
3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	80
3.3.1. Tipo de estudio.....	80
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	80
3.4.1. Población.....	80
3.4.2. Muestra.....	81
3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	81
3.5.1. Método aplicado para la recolección de las muestras del parto vaginal.....	82
3.6. TÉCNICAS PARA EL ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	83
 CAPÍTULO IV	
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	84
4.1. DISCUSIÓN.....	84
 CAPÍTULO V	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	90
5.1. CONCLUSIONES.....	90
5.2. RECOMENDACIONES.....	91
 CAPÍTULO VI	
6. MARCO ADMINISTRATIVO.....	92
6.1. RECURSOS HUMANOS.....	92
6.2. RECURSOS MATERIALES.....	92
6.3. RECURSOS TECNOLÓGICOS.....	93
6.4. RECURSOS FINANCIEROS.....	93
6.5. NÓMINA DE PACIENTES ANALIZADOS.....	93

7.	BIBLIOGRAFÍA.....	95
8.	ANEXOS.....	100
8.1.	FOTOGRAFÍAS DE LA INVESTIGACIÓN.....	100
8.2.	CERTIFICADO ACEPTACIÓN HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE RIOBAMBA.....	107
8.3.	RESULTADOS DEL EXAMEN DE LABORATORIO.....	108
8.4.	MICROBIOTA SEGÚN LA SUPERFICIE CORPORAL.....	111
8.5.	CONSTANCIA DE REVISIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1:	Alteraciones de la microbiota vaginal.....	48
--------------	--	----

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía N° 1:	Proteus vulgaris en agar sangre.....	15
Fotografía N° 2:	Gram Negativa Escherichia coli.....	16
Fotografía N° 3:	Exudado inflamatorio purulento en la base del cerebro por una meningitis.....	33
Fotografía N° 4:	Investigadora frente al nosocomio.....	100
Fotografía N° 5:	Normas de seguridad en el quirófano.....	100
Fotografía N° 6:	Hisopado bucal al momento del nacimiento.....	101
Fotografía N° 7:	Hisopado bucal al momento del nacimiento.....	101
Fotografía N° 8:	Hisopado bucal al momento del nacimiento.....	102
Fotografía N° 9:	Toma de muestra a las 12 horas de vida.....	102
Fotografía N° 10:	Toma de muestra a las 12 horas de vida.....	103
Fotografía N° 11:	Toma de muestra a las 24 horas de vida.....	103
Fotografía N° 12:	Identificación de los tubos de ensayo con sus respectivas muestras.....	104
Fotografía N° 13:	Identificación de los tubos de ensayo con sus respectivas muestras.....	104

Fotografía N° 14:	Siembra de los diferentes microorganismos	
	en los diferentes agares.....	105
Fotografía N° 15:	Siembra de los diferentes microorganismos	
	en los diferentes agares.....	105
Fotografía N° 16:	Charlas educativas sobre higiene bucal a las madres	
	de los neonatos.....	106
Fotografía N° 17:	Charlas educativas sobre higiene bucal a las madres	
	de los neonatos.....	106

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1:	Ciclo de crecimiento de microorganismos.....	59
Gráfico N° 2:	Resultados de la 1ra. muestra.....	85
Gráfico N° 3:	Resultados de la 2da. muestra.....	86
Gráfico N° 4:	Resultados de la 3ra. muestra.....	87

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1:	Lactobacillus spp. en célula epitelial vaginal.....	43
Imagen N° 2:	Bacterias adheridas a células epiteliales vaginales.....	44

ÍNDICE DE MAPAS

Mapa N° 1:	Ubicación del Hospital Provincial General	
	Docente de Riobamba.....	10

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1:	Criterios de diagnóstico.....	47
Tabla N° 2:	Microorganismo en función de sus temperaturas.....	61
Tabla N° 3:	Frecuencia de microbiota oral en el recién nacido.....	85
Tabla N° 4:	Frecuencia de microbiota oral a las 12 horas.....	86
Tabla N° 5:	Frecuencia de microbiota oral a las 24 horas.....	87
Tabla N° 6:	Microbiota oral total en los neonatos.....	88
Tabla N° 7:	Nómina de pacientes analizados.....	93

INTRODUCCIÓN

El estudio de la Microbiología de la cavidad bucal, de los dientes y las encías ha cobrado en los últimos tiempos una importancia extraordinaria.

Sin embargo, el conocimiento de los microorganismos existentes en la boca, es tan antigua como la historia misma de la Microbiología.

En efecto las observaciones magistrales logrado por el inventor del microscopio, Antonio Van Leeuwenhoek, en 1663, consignaron en primer lugar, la descripción de los microorganismos presentes en la boca humana.

La presencia de los microorganismos en la boca comienza a manifestarse desde pocas horas del nacimiento del niño. Si bien es cierto que en el momento del alumbramiento, la boca está exenta de microbios y por tanto estéril, ya a las 4 y 12 horas, se establece el *Streptococcus Viridans*, como germen prominente, procedente, seguramente, de la piel o mucosa de la madre.

Durante los primeros meses vienen apareciendo nuevos organismos como los estafilococos aerobios y anaerobios diplococos, Gram negativos Neisserias, hoy denominadas Branhamellas.

El feto en condiciones normales está libre de microorganismos y en el momento del nacimiento que se expone a ellos.

La colonización microbiana del neonato comienza con su parto a través del canal del parto, donde se expone a la flora de la vagina de la madre y continua, después del nacimiento, con la exposición a los microorganismos del medio ambiente y de los que colonizan al personal del hospital u otros individuos que se relacionan con el recién nacido.

Después de un corto tiempo el niño desarrolla su propia flora microbiana, esta flora también conocida como flora normal, va experimentar cambios en función de los cambios en el individuo como por ejemplo, edad tipo de alimentación y en función del medio ambiente donde se encuentra.

Los bebés pasan de un ambiente prácticamente estéril, en el que no han estado en contacto con ningún microbio, a un mundo en el que pululan bacterias, virus y otros microorganismos. El bebé es para ellos como un territorio sin dueño que se apresuran a colonizar. Para el recién nacido es de importancia vital que en su cuerpo se desarrollen las bacterias más adecuadas para ayudarlo a vivir y a defenderse de otros microbios que pueden ser dañinos.

Los resultados indican que los niños nacidos de parto natural reciben de sus madres bacterias de las que normalmente habitan en la vagina materna, mientras los nacidos por cesárea son colonizados por bacterias de la flora cutánea, no necesariamente procedentes de las madres.

En todos los neonatos, independientemente de si nacieron por parto natural o cesárea, las bacterias se aprestaron a colonizar las diferentes zonas corporales de forma que la flora presente en ellas era mucho más homogénea que la que vivía en los cuerpos maternos.

Como los niños nacidos por cesárea son más propensos a sufrir algunas infecciones, como por ejemplo las producidas por *Staphylococcus*, los autores interpretan que las bacterias transmitidas a los niños desde la vagina de las madres bien pudieran ser una forma de protección.

Los niños nacidos por cesárea, por el contrario no reciben bacterias procedentes de la vagina, sino que son bacterias que pueblan el ambiente hospitalario, y no solo no son beneficiosas, sino que, por la frecuencia de estirpes resistentes a los antibióticos que hay en algunos hospitales, pueden ser un peligro para el neonato.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Debido a que la Microbiología Bucal es una disciplina relativamente nueva, el diagnóstico microbiológico de las infecciones de la cavidad bucal, en nuestro país, no se realiza con la frecuencia que debería hacerse.

No obstante, conviene tener presente que este tipo de análisis es una herramienta importante para el Odontólogo, ya que permite conocer la etiología microbiana de una enfermedad, seleccionar el antimicrobiano adecuado y también determinar la eficacia del tratamiento realizado. (7) (22)

Antes del parto, el feto vive en un ambiente estéril, rodeado del líquido amniótico y la placenta; es en el momento del nacimiento, cuando se pone en contacto primero en el canal del parto, y posteriormente en el ambiente que le rodea, con los distintos microorganismos que van a colonizar su piel, nariz, cavidad oral y otras regiones corporales.

Para ello, estos microorganismos deben ser capaces de adherirse a los epitelios como un primer paso que permita la colonización y multiplicación posteriores. La colonización únicamente puede ser llevada a cabo por microorganismos pertenecientes a la microbiota humana y que lógicamente proceden de la microbiota de las personas que están en contacto con el recién nacido.

Se realizó un estudio en México con el propósito de determinar la correlación existente entre la flora bacteriana de la cavidad vaginal o líquido amniótico en la madre y la cavidad oral de los recién nacidos, se realizó un estudio bacteriológico prospectivo en 43 recién nacidos; 18 de ellos nacieron por vía cesárea y 25 por vía vaginal.

Las muestras para el cultivo se recolectaron al momento del nacimiento, a las 12 y 24 horas de vida. En los recién nacidos obtenidos por cesárea no hubo correlación entre los microorganismos encontrados en líquido amniótico y en la cavidad oral del recién nacido.

En los neonatos obtenidos por vía vaginal se encontró correlación entre los microorganismos de la cavidad oral del neonato y de la flora vaginal materna. Estos resultados apoyan la hipótesis que, al nacimiento, las bacterias colonizantes de la cavidad oral provienen de la contaminación con la cavidad vaginal materna. (23)

Los microorganismos adquiridos durante el paso por el canal parto que más frecuentemente ocasionan infección en el RN son EGB, Escherichia coli, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, y algunos virus que también pueden estar presentes en las secreciones genitales (Herpes simple, Varicela, Papiloma virus, Citomegalovirus, Hepatitis B o VIH). (11) (22)

En los últimos 20 años la infección por Streptococcus agalactiae (Beta hemolítico Grupo B), comúnmente conocido como Streptococcus grupo B (SGB), ha sido en el período neonatal precoz, la principal causa de sepsis, bronconeumonía, meningitis y muerte por infección, en la mayoría de los países desarrollados.

Infección causada por Streptococcus agalactiae (estreptococos grupo B, EGB) se encuentra en la vagina o recto en el momento del parto en un 15 - 20% de las embarazadas en Venezuela, siendo la tasa de transmisión vertical madre / RN del orden del 50%.

En ausencia de medidas de prevención un 3 por cada mil RN pueden ser infectados por EGB a su paso por el canal del parto desarrollando una infección neonatal severa (sepsis precoz).

Actualmente la única medida de eficacia probada para prevenir el desarrollo de sepsis neonatal precoz por EGB es la aplicación en el momento del parto de profilaxis antibiótica a las madres portadoras.

Para detectar las madres portadoras debe efectuarse un cultivo tomando un escobillón vaginal y otra rectal (o un escobillón vagino-rectal).

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA.

¿Se realiza un debido análisis, estudio y valoración microbiológica de la cavidad oral en los neonatos nacidos por parto vaginal en el Hospital Provincial General Docente de Riobamba?

1.3. OBJETIVOS.

1.3.1. Objetivo general.

Identificar mediante pruebas de laboratorio los diversos tipos de microorganismos existentes en la cavidad oral de los neonatos para de ésta manera, prevenir enfermedades que pongan en riesgo la vida de los recién nacidos.

1.3.2. Objetivos específicos.

- 1) Realizar una toma de muestra del recién nacido para identificar la microbiota oral al momento de su nacimiento.
- 2) Comparar tres muestras del neonato durante las primeras 24 horas de vida.
- 3) Identificar posibles patologías existentes en la microbiota oral en el neonato en su primer día de vida.
- 4) Entregar a las autoridades nosocomiales la presente investigación con las conclusiones y recomendaciones.

1.4. JUSTIFICACION.

Durante el embarazo el entorno del feto es normalmente estéril. Aunque el feto puede infectarse aun cuando las membranas están íntegras, es desde que las membranas se rompen y hasta que el parto finaliza cuando habitualmente queda expuesto a estos microorganismos que inician la colonización del tracto respiratorio y gastrointestinal. Si el parto se retrasa tras la rotura de membranas los microorganismos de la vagina puede ascender y colonizar o infectar al feto y a la placenta.

La contaminación de la sala de partos -aún en los sitios clasificados como limpios- es inevitable a pesar de las mejores preparaciones y técnicas quirúrgicas. Los estudios de Culbertson et al., Howe y Marston y Burke, han demostrado que las bacterias potencialmente patógenas, incluyendo el *Staphylococcus aureus*, pueden ser aisladas de más del 90% de los sitios quirúrgicos. El propósito de la profilaxis antibiótica es, por tanto, erradicar o retardar el crecimiento de los microorganismos contaminantes.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.

Al nacer, el bebé pasa de un medio estéril, dentro del útero de la madre, a otro lleno de microorganismos. Lo normal es que algunos de estos microorganismos comiencen a crecer en el neonato. Además, algunos microbios presentes en el ambiente pueden causar enfermedades. (8)

Estudios realizados en diferentes países han demostrado que los microorganismos causantes de las infecciones neonatales varían con el tiempo. A su vez estos agentes son diferentes en diversas regiones geográficas, lo que hace necesario la investigación constante.

Al comparar los resultados con numerosos estudios realizados en diversas partes del mundo se aprecia gran similitud, pues en la mayoría predominan las bacterias Gram positivas y dentro de estas, el estafilococo coagulasa negativo ha tomado la delantera, así podemos mencionar un estudio de tres años realizado en el Instituto de salud del niño.

Igual resultado muestra una investigación llevada a cabo en el hospital "Ramón González Coro" de Ciudad Habana, donde prevalece el estafilococo coagulasa negativa como causa más frecuente de sepsis neonatal. Dicho estafilococo es actualmente reconocido como la mayor causa de infección intrahospitalaria, en el neonato, en numerosas partes del mundo y más aún por su elevada resistencia a una amplia gama de antibióticos. (13) (22)

Afecta por lo general a recién nacidos hospitalizados durante períodos prolongados y que requieren diferentes técnicas invasivas, tanto para su monitorización como para su tratamiento. Se postulan varias razones para la prevalencia actual de los estafilococos coagulasa negativos como patógenos intrahospitalarios: son residentes normales de la piel de los recién nacidos, por lo que la colonización es importante al final de la primera semana; además, estos microorganismos se tornan resistentes por el uso de antibióticos de amplio espectro. Por último, elaboran factores de adherencia que les permiten fijarse a superficies de catéteres, derivaciones y prótesis y formar biopelículas; una vez adheridos, quedan cubiertos por una capa protectora de limo, que inhibe la fagocitosis y la actividad antimicrobiana. (5)

Llama la atención la diferencia en los hallazgos obtenidos por tipo de servicio de neonatología (cerrado o abierto). Teniendo en cuenta que en ambos 94,4 % de los pacientes estuvieron internados en las UCIN, entonces es preocupante porque lo encontrado en servicios cerrados de neonatología difiere tanto de los resultados en los servicios abiertos de neonatología de nuestra ciudad, también con lo notificado en la mayoría de las investigaciones revisadas.

Lo cierto es que la mayoría de los autores les dan una importantísima función a estos agentes como causa de sepsis neonatal, principalmente las adquiridas en los hospitales y que se muestran cada vez más como bacterias multirresistentes a los antimicrobianos, por lo que su tratamiento se hace cada vez más difícil. Consideramos que en nuestra provincia es necesario iniciar un serio trabajo encaminado a definir algunas de estas interrogantes que debe tener como base la vinculación estrecha y el trabajo mancomunado de neonatólogos, microbiólogos y epidemiólogos. (3) (4)

Otro detalle a resaltar en este estudio es que el estreptococo beta hemolítico del grupo B no aparece en la lista de nuestros aislamientos; si bien la bibliografía ha informado siempre a este microorganismo como causa importante de infecciones graves de los neonatos El Estreptococo beta hemolítico del grupo B sigue siendo la bacteria patógena más importante relacionada con septicemia neonatal de inicio temprano en países desarrollados, lo que no es así en los países en desarrollo

En Latinoamérica, África y Asia el porcentaje de septicemias, meningitis neonatal por este microorganismo varía entre 2 y 28 %. No se sabe por qué los recién nacidos en algunos países en desarrollo rara vez se infectan por *Streptococcus beta hemolítico del grupo B*. Los neonatos en general adquieren el estreptococo por transmisión vertical de una madre colonizada. Las bajas tasas de infección invasora en el recién nacido pueden deberse a uno de varios factores como: la rara exposición al microorganismo (baja tasa de colonización materna), exposición a cepas menos virulentas, diferencias genéticas en susceptibilidad a la enfermedad o cifras elevadas de anticuerpos protectores de adquisición transplacentarias en el suero. (18)

2.1.1. Marco institucional.

El Hospital Provincial General Docente Riobamba, está ubicado sobre la Av. Juan Félix Proaño y Chile s/n, ciudad de Riobamba, Cantón del mismo nombre, en la provincia de Chimborazo. Este nosocomio es una Entidad del Gobierno Central y es adscrita al Ministerio de Salud Pública, depende jerárquicamente de la Dirección Provincial de Salud de Chimborazo, a partir del año 2004 se aplica la Estructura Organizacional por Procesos, según Oficio de la OSCIDI (actualmente SENRES) N° 2192 del 17 de julio del 2003 se dictamina favorablemente esta estructura con Decreto Ejecutivo N° 41 publicado en Suplemento Oficial N° 11 del 25 de agosto de 1998.

El centro de obstetricia y ginecología, es la unidad encargada de brindar atención obstétrica y ginecológica a toda la población femenina que acude a esta área, a través de acciones médicas y de enfermería. Cuenta con personal profesional de enfermería y médico tratante las 24 horas del día y los 365 días del año. **Servicios:** Atención del parto normal, atención del recién nacido, realización de cesárea, legrados, ligadura, laparotomías por embarazos ectópicos, recuperación post parto y post anestésica, control de la calidad en atención de parto normal y complicados, hemorragias, pre-eclampsias, eclampsia y sepsis.

Estadísticas: Mensualmente en promedio se realiza 318 partos normales, 108 cesáreas, 34 ligaduras, 56 legrados.

El laboratorio clínico de especialidades PAZMIÑO-NARVAEZ tiene su casa matriz en la ciudad de Quito y cuenta con 5 sucursales distribuidas en todo el país. La sucursal de la ciudad Riobamba se ubica sobre la calle Pichincha 21-48, entre las calles Guayaquil y 10 de Agosto. Este laboratorio fue el indicado para realizar la investigación, ya que tiene las características necesarias para realizar todo tipo de cultivos en diferentes tipos de agares, ya que este laboratorio está certificado con NORMAS ISO.

Mapa N° 1: Ubicación del Hospital Provincial General Docente de Riobamba.



Fuente: www.wikipedia.org
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

La microbiota vaginal residente, consiste de manera predominante de *Lactobacillus* spp., con las especies prevalentes *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. iners*, *L. acidophilus* y *L. gasseri*, microorganismos que se consideran, en general, como una línea fundamental de defensa contra patógenos potenciales. (5)

También se reportan dentro de la microbiota vaginal especies de *Bacteroides*, *Staphylococcus epidermis*, especies de *Corynebacterium*, *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*, así como otros géneros bacterianos: *Atopobium vaginae*, *Megasphaera*, *Leptotrichia* y *Mycoplasma*. (7)

Atendiendo a la capacidad de colonización de las bacterias podemos dividir las en dos grupos: residentes y transeúntes, éstas últimas se encuentran en la superficie epitelial, son fáciles de eliminar, y provienen del contacto con diversos elementos ambientales (p.ej. objetos, tierra, polvo, alimentos). Estas bacterias no están adaptadas a las superficies humanas por residir en otros hábitats. Existen además, variaciones étnicas. El microbioma de la vagina, es mucho más heterogéneo que lo que antes se consideraba. (Witkin & Ledger, 2012). (6)

2.2.1. Bacterias.

Las bacterias son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (entre 0,5 y 5 μm , por lo general) y diversas formas incluyendo esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos). Las bacterias son procariontas y, por lo tanto, a diferencia de las células eucariotas (de animales, plantas, hongos, etc.), no tienen el núcleo bien definido ni presentan, en general, orgánulos membranosos internos. Generalmente poseen una pared celular compuesta de peptidoglicano. Muchas bacterias disponen de flagelos o de otros sistemas de desplazamiento y son móviles. Del estudio de las bacterias se encarga la bacteriología, una rama de la microbiología.

Las bacterias son los organismos más abundantes del planeta. Son ubicuas, se encuentran en todos los hábitats terrestres y acuáticos; crecen hasta en los más extremos como en los manantiales de aguas calientes y ácidas, en desechos radioactivos, en las profundidades tanto del mar como de la corteza terrestre.

Algunas bacterias pueden incluso sobrevivir en las condiciones extremas del espacio exterior. Se estima que se pueden encontrar en torno a 40 millones de células bacterianas en un gramo de tierra y un millón de células bacterianas en un mililitro de agua dulce. En total, se calcula que hay aproximadamente 5×10^{30} bacterias en el mundo.

Las bacterias son imprescindibles para el reciclaje de los elementos, pues muchos pasos importantes de los ciclos biogeoquímicos dependen de éstas. Como ejemplo cabe citar la fijación del nitrógeno atmosférico. Sin embargo, solamente la mitad de los filos conocidos de bacterias tienen especies que se pueden cultivar en el laboratorio, por lo que una gran parte (se supone que cerca del 90%) de las especies de bacterias existentes todavía no ha sido descrita.

En el cuerpo humano hay aproximadamente diez veces tantas células bacterianas como células humanas, con una gran cantidad de bacterias en la piel y en el tracto digestivo. Aunque el efecto protector del sistema inmunitario hace que la gran mayoría de estas bacterias sea inofensiva o beneficiosa, algunas bacterias patógenas pueden causar enfermedades infecciosas, incluyendo cólera, difteria, escarlatina, lepra, sífilis, tifus, etc.

Las enfermedades bacterianas mortales más comunes son las infecciones respiratorias, con una mortalidad solo para la tuberculosis de cerca de dos millones de personas al año.

En todo el mundo se utilizan antibióticos para tratar las infecciones bacterianas. Los antibióticos son efectivos contra las bacterias ya que inhiben la formación de la pared celular o detienen otros procesos de su ciclo de vida. También se usan extensamente en la agricultura y la ganadería en ausencia de enfermedad, lo que ocasiona que se esté generalizando la resistencia de las bacterias a los antibióticos.

En la industria, las bacterias son importantes en procesos tales como el tratamiento de aguas residuales, en la producción de mantequilla, queso, vinagre, yogurt, etc., y en la fabricación de medicamentos y de otros productos químicos.

Aunque el término bacteria incluía tradicionalmente a todos los procariotas, actualmente la taxonomía y la nomenclatura científica los divide en dos grupos. Estos dominios evolutivos, se denominan Bacteria y Archaea (arqueas). La división se justifica en las grandes diferencias que presentan ambos grupos a nivel bioquímico y genético.

2.2.2. Estructura de la célula bacteriana.

Las bacterias son organismos relativamente sencillos. Sus dimensiones son muy reducidas, unos 2 μm de ancho por 7-8 μm de longitud en la forma cilíndrica (bacilo) de tamaño medio; aunque son muy frecuentes las especies de 0,5-1,5 μm .

Al tratarse de organismos procariotas, tienen las características básicas correspondientes como la carencia de un núcleo delimitado por una membrana aunque presentan un nucleoide, una estructura elemental que contiene una gran molécula circular de ADN. (7)

El citoplasma carece de orgánulos delimitados por membranas y de las formaciones protoplasmáticas propias de las células eucariotas.

En el citoplasma se pueden apreciar plásmidos, pequeñas moléculas circulares de ADN que coexisten con el nucleoide, contienen genes y son comúnmente usados por los procariontes en la conjugación. El citoplasma también contiene vacuolas (gránulos que contienen sustancias de reserva) y ribosomas (utilizados en la síntesis de proteínas).

Una membrana citoplasmática compuesta de lípidos rodea el citoplasma y, al igual que las células de las plantas, la mayoría posee una pared celular, que en este caso está compuesta por peptidoglicano (mureína). La mayoría de bacterias, presentan además una segunda membrana lipídica (membrana externa) rodeando a la pared celular. (8)

El espacio comprendido entre la membrana citoplasmática y la pared celular (o la membrana externa si esta existe) se denomina espacio periplásmico. Algunas bacterias presentan una cápsula y otras son capaces de desarrollarse como endosporas, estados latentes capaces de resistir condiciones extremas.

Entre las formaciones exteriores propias de la célula bacteriana destacan los flagelos y los pili.

2.2.3. Bacterias Gram positivas.

Son bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram: de aquí el nombre de "Gram-positivas" o también "grampositivas".

Esta característica Química está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana.

Son uno de los principales grupos de bacterias, y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de Posibacteria. Las restantes son las bacterias Gram negativas. La envoltura celular de las bacterias Gram-positivas comprende la membrana citoplasmática y una pared celular compuesta por una gruesa capa de peptidoglucano, que rodea a la anterior. La pared celular se une a la membrana citoplasmática mediante moléculas de ácido lipoteicoico. (11) (33)

La capa de peptidoglucano confiere una gran resistencia a estas bacterias y es la responsable de retener el tinte durante la tinción de Gram. A diferencia de las Gram-negativas, las Gram-positivas no presentan una segunda membrana lipídica externa a la pared celular y esta pared es mucho más gruesa. Incluyen especies tanto móviles (vía flagelos) como inmóviles con forma de bacilo (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Listeria*) o coco (*Staphylococcus*, *Streptococcus*); con gruesas paredes celulares o sin ellas (*Mycoplasma*).

Algunas especies son fotosintéticas, pero la mayoría son heterótrofas. Muchas de estas bacterias forman endosporas en condiciones desfavorables. Realmente, no todas las bacterias del grupo son Gram-positivas (no se tiñen por la aplicación de ese método), pero se incluyen aquí por su similitud molecular con otras bacterias Gram-positivas. (33)

Fotografía N° 1: Proteus vulgaris en agar sangre.



Fuente: www.microbitos.blogspot.com
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

2.2.4. Bacterias Gram negativas.

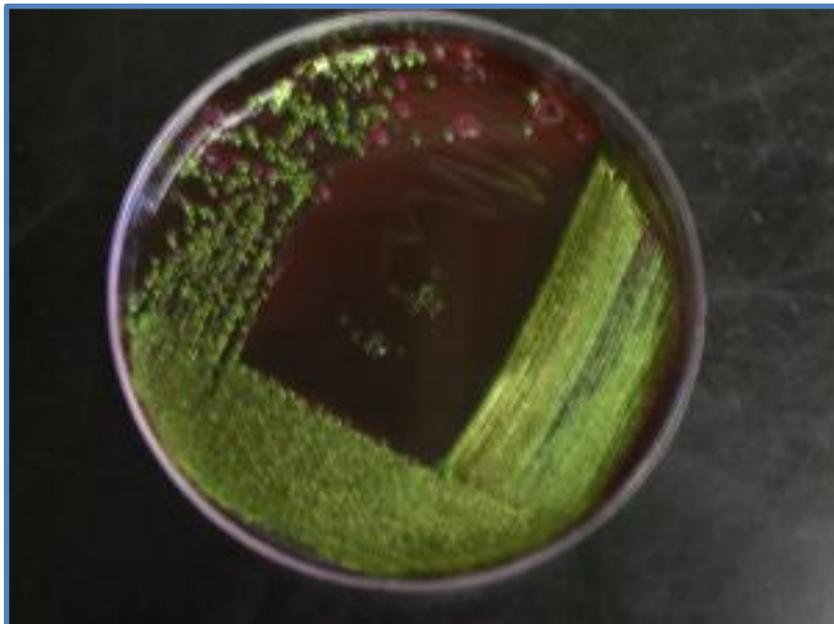
Son aquellas bacterias que NO se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram, y lo hacen de un color rosado tenue: de ahí el nombre de "Gram-negativas" o también "gramnegativas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de Negibacteria. (33)

Las restantes son las bacterias Gram positivas. Las bacterias Gram-negativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglicano, mientras que las bacterias Gram-positivas presentan solo una membrana lipídica y la pared de peptidoglicano es mucho más gruesa. Al ser la pared fina, no retiene el colorante durante la tinción de Gram. Muchas especies de bacterias Gram-negativas causan enfermedades. (23)

Los cocos Gram-negativos causan la gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*), meningitis (*Neisseria meningitidis*) y síntomas respiratorios (*Moraxella catarrhalis*), entre otros. Los bacilos Gram negativos incluyen un gran número de especies.

Algunos de ellos causan principalmente enfermedades respiratorias (*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*), enfermedades urinarias (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*) y enfermedades gastrointestinales (*Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*). Otros están asociadas a infecciones nosocomiales (*Acinetobacter baumannii*). (30)

Fotografía N° 2: Gram Negativa Escherichia coli.



Fuente: www.microbito.blogspot.com
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

2.2.5. Infección adquirida en el canal del parto.

Durante el embarazo y hasta la rotura de membranas el entorno del feto es normalmente estéril. *Staphylococcus epidermidis*, lactobacilos, difteroides, estreptococos alfa hemolíticos y anaerobios estrictos están presentes en la totalidad de la flora vaginal de la mujer adulta sana. (15) (34)

Con menor frecuencia aparecen *Gardnerella vaginalis*, enterococos, *Streptococcus agalactiae* (Estreptococos grupo B, EGB), enterobacterias y más raramente están presentes otros microorganismos como *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

Aunque el feto puede infectarse aun cuando las membranas están íntegras, es desde que las membranas se rompen y hasta que el parto finaliza cuando habitualmente queda expuesto a estos microorganismos que inician la colonización del tracto respiratorio y gastrointestinal. (30) (35)

Si el parto se retrasa tras la rotura de membranas los microorganismos de la vagina puede ascender y colonizar o infectar al feto y a la placenta. El recién nacido (RN) se coloniza inicialmente en piel y mucosas y en la mayoría de los casos los microorganismos proliferan sin causar infección y la microbiota normal se establece sin incidentes, sin embargo una minoría de RN desarrollan infección causadas por estos microorganismos.

Los RN que desarrollan sepsis bacteriana presentan con frecuencia factores de riesgo que son más raros en aquellos que no resultan infectados.

Los más importantes son: bajo peso, parto prolongado con hipoxia perinatal, rotura prematura y prolongada de membranas, fiebre y o leucocitosis en la madre, infección maternal periparto, vaginitis y/o cervicitis (sintomáticas o asintomáticas), infección del tracto urinario o bacteriuria asintomática por EGB, e hijo anterior con infección por EGB (lo que habitualmente traduce un déficit de anticuerpos maternos frente a EGB). (38)

Los microorganismos adquiridos durante el paso por el canal parto que más frecuentemente ocasionan infección en el RN son EGB, *Escherichia coli*, *Ureaplasma urealyticum*, *S. pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*. También existen algunos virus que pueden estar presentes en las secreciones genitales (Herpes simple, Varicela, Papiloma virus, Citomegalovirus, Hepatitis B o VIH). (40)

2.2.5.1. Biota vaginal.

La biota bacteriana de la vagina femenina puede tener un profundo impacto en la salud de las mujeres y sus recién nacidos. La vagina es un ecosistema dinámico que permanece regula su equilibrio mediante el estado hormonal de la hospedera y la flora bacteriana presente.

Se constituye de especies de *Lactobacillus* (96 %) y de bacterias aerobias potencialmente patógenas (4 % restante), como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupo B y *Escherichia coli*.

La flora vaginal es el conjunto de microorganismos que viven de manera natural y sin causar daño en la región vaginal. En los humanos representa la concentración de bacterias más alta del cuerpo humano, con la excepción del colon. Las bacterias de la flora vaginal fueron descubiertas por el ginecólogo Albert Döderlein, en 1892. Primariamente, esas bacterias son lactobacilos.

La cantidad y tipo de bacterias presentes tienen implicaciones significativas para la salud global femenina. Esas bacterias y el ácido láctico que producen, en combinación con los fluidos secretados, otorgan el característico olor asociado con el área vaginal. Durante la menstruación, la concentración de la flora vaginal declina. El efecto del uso de tampones sobre tal flora sigue siendo motivo de debate, pero el uso seguro de tampones estériles aparece como no significativo en modificar el balance bacteriano presente.

2.2.5.2. Prevención de enfermedades.

Una saludable presencia de flora vaginal ayuda en la prevención de infecciones por hongos y levaduras y otros problemas posibles por ocupar los recursos químicos que si no serían utilizados por los organismos patógenos.

Así, bacterias dañinas, y/o un desequilibrio de bacterias puede desencadenar la infección. Un método de reducir el riesgo de infección en el área local de la uretra es orinar inmediatamente después del coito.

Además, el uso exclusivo de preservativos estériles puede ayudar en la prevención de infecciones.

2.2.6. Embarazo y Estreptococo del grupo B (EGB).

El embarazo es una fase mágica e ilusionante para la gran mayoría de las mujeres, aunque no exenta de algunos riesgos que, afortunadamente, podemos minimizar hoy en día con los adecuados controles. El Estreptococo del Grupo B (EGB) es uno de los elementos a combatir.

El estreptococo del Grupo B (EGB) es un tipo de bacteria que se detecta en un 10–30 % de las mujeres embarazadas. Una mujer con EGB puede transmitir la bacteria a su bebé durante el trabajo de parto y el parto.

La mayoría de los bebés que contraen EGB de sus madres no presentan problemas. Algunos, sin embargo, pueden enfermarse.

Esta enfermedad puede producir problemas graves de salud e incluso la muerte en bebés recién nacidos. Por lo general se puede prevenir con pruebas de detección rutinarias que se realizan durante la atención prenatal. (22)
(31)

2.2.6.1. *Qué es el EGB.*

Es una bacteria que forma parte de la flora normal intestinal de los adultos, pero que puede causar infecciones graves en los recién nacidos y, en ocasiones, también a las madres durante el embarazo y en el puerperio.

El EGB es una de muchas bacterias que viven en el cuerpo y que generalmente no causan enfermedades graves. Se encuentra en el aparato digestivo, urinario y reproductor de hombres y mujeres. En las mujeres, esta bacteria puede estar alojada en la vagina y en el recto.

El Estreptococo del grupo B no es una enfermedad de transmisión sexual. Además, aunque los nombres sean semejantes, el EGB es distinto al estreptococo del grupo A, la bacteria que causa dolor de garganta por estreptococo. (22)

Una persona que tiene la bacteria pero no presenta síntomas se dice que está colonizada. La cantidad de bacterias que tiene una persona puede cambiar con el transcurso del tiempo. Una persona colonizada con una cantidad grande de bacterias puede tener niveles reducidos de la bacteria al cabo de unos meses o años. También es posible que los niveles de la bacteria disminuyan a un grado no detectable.

La mayoría de las mujeres embarazadas que están colonizadas con EGB no presentan síntomas ni se ve afectada su salud. Una pequeña cantidad puede presentar una infección de las vías urinarias o infección del útero a causa del EGB. (36)

El efecto más grave a la salud es que una mujer colonizada con EGB en la etapa final del embarazo puede transmitir la infección a su bebé. Por este motivo, se realizan pruebas de detección del EGB en las etapas finales del embarazo. Si se detecta EGB, se administrará tratamiento a la mujer durante el trabajo de parto.

2.2.6.2. *Portadora del EGB.*

Aunque tener el EGB en el intestino sea completamente normal en personas adultas, en el caso de la mujer, dada la proximidad con la zona genital, también puede colonizar la vagina y, en ocasiones, incluso las vías urinarias. (38)

La colonización por el EGB no conlleva enfermedad, y muchas mujeres están colonizadas sin tener una infección, pero en el embarazo hay que tomar algunas precauciones para evitar el contagio del EGB al recién nacido.

2.2.6.3. *Cómo se detecta el EGB.*

Para saber si la mujer embarazada es portadora o no del EGB, se realiza el screening del EGB en gestantes, que consiste en recoger una muestra de vagina y recto para realizar un cultivo microbiológico e investigar si está presente la bacteria. Esta prueba debe ser realizada al final del embarazo, sobre las semanas 34-37 y no antes, ya que el hecho de no ser portadora al inicio del embarazo no descarta que se pueda serlo al final del mismo. Por ello, la validez del screening es de unas cuatro semanas, transcurridas las cuales debería repetirse. (38)

2.2.6.4. *Transmisión del EGB al recién nacido.*

Una mujer gestante portadora del EGB puede transmitir éste al recién nacido, lo cual ocurre durante el parto. Hay algunos factores que se asocian con un mayor riesgo de transmisión:

- Si se tiene un parto prematuro (<37 semanas),
- Si la bolsa no se rompe completamente y se tarda más de 18 horas en hacerlo,
- Si la madre tiene fiebre durante el parto,
- Si ha tenido un hijo anterior con infección por el EGB y,
- Si tiene una infección de orina durante el embarazo causada por EGB.

2.2.6.5. *Tratamiento del EGB.*

A las gestantes portadoras del EGB, se le administran antibióticos durante el parto y de esta forma, se previene la transmisión al recién nacido. A la futura madre portadora, se le recomienda que tenga una copia del informe de screening de EGB a mano cuando acuda al hospital, para facilitar la rapidez del tratamiento.

Para evitar una infección por EGB de inicio temprano, se realizan pruebas de detección de la bacteria en las etapas finales del embarazo de la mujer, es decir, entre las semanas 35 y 37. Esta prueba se denomina cultivo.

En esta prueba, se usa un hisopo para tomar una muestra de la vagina y el recto de la mujer. El procedimiento se hace rápidamente y no produce dolor. La muestra entonces se envía a un laboratorio donde se coloca en una sustancia especial para hacer proliferar las bacterias. Pueden transcurrir dos días antes de obtener los resultados. (9) (11)

Si los resultados de la prueba del cultivo son positivos y revelan que hay EGB presente, recibirá tratamiento con *antibióticos* durante el trabajo de parto para evitar transmitir EGB al bebé. Los antibióticos ayudan a eliminar algunas de las bacterias que pueden ser perjudiciales durante el parto. Además solo funcionan si se administran durante el trabajo de parto. (31)

Si el tratamiento se administra antes de ese momento, la bacteria podría volver a proliferarse y estar presente durante el trabajo de parto. Aun si ha tenido un resultado negativo en una prueba de EGB durante un embarazo previo, necesitará hacerse dicha prueba otra vez durante cada embarazo. Si ha tenido un resultado positivo en una prueba de EGB durante un embarazo previo, necesitará hacerse la prueba otra vez con cada embarazo. Es posible que ya no tenga la bacteria. (33)

La penicilina es un antibiótico que se usa a menudo para prevenir la infección por EGB de inicio temprano en recién nacidos. Si es alérgica a la penicilina, dígaselo a su proveedor de atención médica antes de hacerse la prueba de EGB. Las mujeres con reacciones alérgicas leves pueden recibir un antibiótico que se llama Cafazolina. Si ha tenido una reacción grave a la Penicilina, como ronchas o *anafilaxia*, es necesario evaluar la bacteria en la muestra para determinar el antibiótico que se debe seleccionar.

2.2.6.6. *Efectos en el recién nacido.*

Hay dos tipos de infecciones por EGB que ocurren en los recién nacidos. Aunque ambos tipos pueden ser peligrosos, la mayoría de los bebés recuperan sin efectos de largo plazo. No obstante, aproximadamente un 5% de los bebés infectados con EGB morirán. (8) (10)

- a) Infecciones de inicio temprano: Las infecciones de inicio temprano ocurren durante las primeras semanas de vida, generalmente entre las 24 a 48 horas de haber nacido. Estas infecciones pueden ocurrir a medida que el bebé se desplaza por el canal de parto de una mujer colonizada con EGB. Solo pocos bebés expuestos al EGB desarrollan una infección.
- b) Ciertos factores, como tener un parto *prematuro*, puede aumentar el riesgo de que el bebé contraiga la infección. Los problemas más comunes que surgen a causa de una infección de EGB de inicio temprano son infecciones pulmonares, infección en la sangre y meningitis.

- c) Infecciones de inicio tardío: Estas infecciones ocurren después de los 6 primeros días de vida. Las madres pueden transmitir estas infecciones a sus bebés durante el parto o pueden ocurrir a causa del contacto con otras personas colonizadas con EGB.

Las infecciones de inicio tardío pueden causar meningitis y otras enfermedades, como pulmonía. Las pruebas de detección de EGB en las últimas etapas del embarazo y el tratamiento durante el trabajo de parto pueden ayudar a prevenir las infecciones de inicio temprano. Sin embargo, no previenen las infecciones de inicio tardío.

2.2.6.7. *Situaciones especiales.*

Las mujeres que tienen un parto por cesárea programado no necesitan recibir antibióticos para el EGB durante el parto si el trabajo de parto no ha comenzado o el *saco amniótico* no se ha roto (no ha ocurrido el rompimiento de fuente).

Sin embargo, aun así se deben someter a una prueba de EGB ya que el trabajo de parto puede ocurrir antes del parto por cesárea programado. Si el resultado de la prueba es positivo, se deberá dar seguimiento al bebé para determinar si ha contraído una infección por EGB después de nacer. (29)

El EGB puede causar problemas graves en los recién nacidos. Es importante saber lo que es EGB para proteger a su bebé. Las mujeres embarazadas reciben la prueba de detección del EGB en las etapas finales del embarazo.

Si el resultado de su prueba de EGB es positivo, el uso de tratamiento durante el trabajo de parto y el parto puede ayudar a prevenir una infección por EGB de inicio temprano en su bebé. (30)

2.2.6.8. *Detección de portadoras.*

Se recomienda estudiar la colonización vagino-rectal de forma universal como screening entre la 35 y 37 semana de gestación, preferentemente en la 35 semana y siempre que exista sospecha de corioamnionitis. (21) (30)

Estos escobillones se siembran en medio líquido de enriquecimiento selectivo para EGB (p.ej.: BHI con gentamicina y ácido Nalidíxico, Todd-Hewitt) y tras incubar 18 - 24 horas se efectúa subcultivo a agar sangre y posteriormente las colonias beta hemolíticas son identificadas como EGB usando antisueros específicos, sin olvidar que entre un 7 – 10 % de los EGB son no hemolíticos.

Una alternativa más cómoda es sembrar los escobillones directamente en "medio Granada", incubándolas en anaerobiosis 18 a 24 horas donde EGB produce colonias naranjas o rojas diagnósticas de EGB. (32)

Si se desea maximizar la detección de portadoras puede utilizarse además de la siembra directa en Granada un caldo de enriquecimiento selectivo, y efectuar subcultivo en agar sangre o medio Granada, si la placa directa fue negativa. Actualmente y por la posibilidad de falsos resultados negativos se desaconseja la utilización de las técnicas de detección de antígeno para diagnóstico de embarazadas portadoras vaginales de EGB. Sin embargo en el futuro estas pruebas podrían ser de utilidad si se consigue resolver los problemas derivados de su falta de sensibilidad. (29)

2.2.7. Prevención de sepsis neonatal.

A los grupos de embarazadas se les deberá administrar profilaxis antibiótica para prevenir la infección neonatal precoz por EGB:

- A toda gestante con colonización positiva,

- Si durante la gestación se detectó bacteriuria (sintomática o asintomática) por EGB,
- Si existe el antecedente de un hijo previo con sepsis por EGB, independientemente del estado de colonización,
- Parto prematuro con edad gestacional menor de 37 semanas si no se conoce su estado de portadora de EGB y,
- Si están presentes uno de los factores de riesgo siguientes: Fiebre intraparto (>38 °C) y/o rotura de membranas ovulares superior a 18 horas (de acuerdo con el protocolo SEGO/ SEN/SEIMC y el protocolo CDC).

Para la prevención de sepsis por EGB se recomienda administrar al comienzo del trabajo del parto (al menos 4 horas antes del expulsivo, ya que en caso contrario disminuye su eficacia) una de las dos pautas siguientes:

a) Penicilina G intravenosa, 5 millones de UI y repetir 2,5 millones de UI cada 4 horas hasta su finalización.

b) Ampicilina intravenosa (solo si no se dispone de penicilina), 2 g y repetir 1 g cada 4 horas hasta su finalización.

En caso de alergia a betalactámicos: Clindamicina intravenosa 900 mg, cada 8 horas o Eritromicina intravenosa 500 mg, cada 6 horas hasta la finalización del parto. (22) (33)

En caso de corioamnionitis sin conocer microorganismo o rotura prolongada de membranas (> 18 horas) se utilizará ampicilina + gentamicina o una Cefalosporina de (cefotaxima) o Amoxicilina-clavulánico.

La sepsis neonatal puede ser categorizada en temprana o de inicio tardío.

- El 85% de los recién nacidos con infección de aparición temprana, se presentan en un plazo de 24 horas,
- El 5% lo presentan entre las 24 y 48 horas y,

- Un pequeño porcentaje de pacientes lo presentarán entre las primeras 48 horas y 6 días de vida.

Atención: La instalación de una sepsis neonatal es más rápida en los recién nacidos prematuros. (Este dato habría que considerarlos como una variable y registrarlo en cada caso)

La sepsis de aparición temprana se asocia con la adquisición de microorganismos de la madre.

La infección transplacentaria o una infección ascendente desde el cuello uterino, puede ser causada por microorganismos que colonizan en el tracto genitourinario de la madre, con la adquisición del microbio por el paso a través del tránsito del neonato por el canal del parto.

Los microorganismos más frecuentemente asociados con la infección de aparición temprana, son:

- ❖ *Streptococcus* del grupo B,
- ❖ *Escherichia coli*,
- ❖ *Haemophilus influenzae* y,
- ❖ *Listeria monocytogenes*.

2.2.8. La microbiota oral es compleja.

- Cocos Gram positivos: *Streptococcus viridans*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. oralis* y *S. mitis*. En menor medida: *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* y los anaerobios *Peptostreptococcus* y *Peptococcus*.

- Cocos gram negativos: especies del género *Neisseria* y *Veillonella*. Tanto aerobios como anaerobios.
- Bacilos gram positivos: *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *C. matruchotii*, *Rothia dentocariosa* y otros llamados difteroides o difteromorfos.
- Bacilos gram negativos: *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, *Actinobacillus*, *Eikenella*, *Campylobacter* y *Haemophilus*.
- Otros: Espiroquetas comensales, hongos como *Candida*, *Mycoplasma* y escasos protozoos como *Trichomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*.

Es importante señalar que la microbiota oral es cambiante en un mismo ecosistema oral, este proceso se conoce como sucesión microbiana, que es la sustitución de unos organismos por otros, existen dos tipos: alogénica y autogénica. (33)

- ❖ La alogénica se produce por cambios en el hábitat de tipo no microbiano como el nacimiento, la erupción de los primeros dientes, la vida adulta, la caída de los dientes y el uso de prótesis dentales entre otros. (6)
- ❖ La autogénica consiste en la sustitución de unos microorganismos por otros más adaptados al ambiente cambiado por los primeros colonizadores debido al consumo de nutrientes, acumulación de productos de desecho excretados, cambios de pH, etc. que propician la colonización por nuevas especies más adaptadas a las nuevas condiciones ambientales del ecosistema microbiano. (6)

El recién nacido no tiene muy desarrollada su flora bucal, lo cual unido con una disminución de la producción de saliva, hace que sean factores que predispongan al desarrollo de múltiples enfermedades tales como:

2.2.9. Enfermedad por Estreptococos del grupo B.

Los estreptococos del grupo B son un tipo de bacterias bastante frecuente que pueden provocar diversas infecciones en los recién nacidos. Entre las más frecuentes, cabe mencionar la septicemia, la neumonía y la meningitis. (2)

Los bebés suelen contraer la infección a partir de sus madres durante el parto -muchas mujeres embarazadas tienen estas bacterias en el recto o la vagina-, desde donde las pueden contagiar fácilmente al recién nacido si no han sido tratada con antibióticos. Los bebés con este tipo de infecciones a menudo presentan signos de infección durante la primera semana de vida, aunque algunos no desarrollan ningún síntoma hasta al cabo de varias semanas o meses. (3)

Dependiendo del tipo concreto de infección (neumonía o septicemia, por ejemplo), los síntomas pueden incluir dificultad para respirar o para alimentarse, fiebre alta, rigidez o inquietud inusual. (2)

2.2.10. Infección por Escherichia coli.

Escherichia coli (*E. coli*) es otra de las bacterias responsables de algunas infecciones neonatales habituales y puede provocar infecciones del aparato urinario, septicemia, meningitis y neumonía. Todo el mundo tiene bacterias *E. coli* en el cuerpo, y los bebés se pueden infectar durante el alumbramiento al pasar por el canal del parto o al entrar en contacto con las bacterias en el hospital o en casa.

La mayoría de recién nacidos que enferman al contraer una infección por *E. coli* tienen sistemas inmunitarios especialmente débiles que los hacen especialmente proclives a contraer infecciones y a enfermar.

Al igual que con otras infecciones bacterianas, los síntomas dependerán del tipo de infección que se desarrolle tras el contagio, pero la fiebre, estar más inquieto de lo habitual, la rigidez o la falta de apetito son habituales. (4)

2.2.11. Staphylococcus aureus.

Es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella.

Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía.

Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria. (5)

En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado o incluso con otro paciente. (11)

Las cepas habituales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina, dejando como los antibióticos más eficaces para combatirlos a los aminoglucósidos, las cefalosporinas, la oxacilina o la nafcilina.

Además de la administración del tratamiento antimicrobiano correspondiente, puede ser conveniente, en función del caso, la eliminación de puertas de entradas como catéteres venosos permanentes o drenajes quirúrgicos.

2.2.12. Proteus.

Es un género de bacterias Gram negativas, que incluye patógenos responsables de muchas infecciones del tracto urinario. Las especies de *Proteus* normalmente no fermentan lactosa por razón de no tener una β galactosidasa, pero algunas se han mostrado capaces de hacerlo en el test TSI (Triple Sugar Iron en inglés, o "Triple Azúcar de Hierro"). Son oxidasa-negativas y ureasa-positivas. Algunas especies son mótils. (15)

Tienden a ser organismos pleomórficos, no esporulados ni capsulados y son productoras de fenilalanina Desaminasa, con la excepción de *P. mirabilis*. Todos los *Proteus* reaccionan positivos con la prueba del indol. El *P. vulgaris*, tiene por lo general, sensibilidad a la ciprofloxacina, ceftazidima, sulbactam, piperacil y al unasyn, entre otros antibióticos.

Es fácil aislar al *P. vulgaris* en individuos que habitan hogares de cuidados de larga duración, hospitales y en pacientes con enfermedades crónicas o con un sistema inmune comprometido. *P. vulgaris* es un microorganismo que fermenta glucosa, sucrosa y amigdalina, pero no fermenta la lactosa ni el manitol.

Proteus es un género de bacterias ubicuas, residentes del tracto intestinal del hombre y algunos animales. Crecen en medios corrientes y moderadamente selectivos a temperatura corporal de 37 °C. Crecen formando capas diseminadas por virtud de su gran motilidad. Existen variantes inmóviles que forman colonias lisas. Deben refrigerarse. (10) La estructura antigénica está compuesta por antígeno somático O, flagelar H y superficial K. El antígeno flagelar H contribuye a la capacidad invasora de las vías urinarias. La variante X del antígeno somático O está presente en algunas cepas de *P. mirabilis*.

Otros grupos antigénicos definidos son el OX2, OX19 y OXK. El grupo OX19 (y a veces el grupo OX2) da reacciones cruzadas (aglutinación) en pacientes con *Rickettsia prowazekii* y ésta es la base de la prueba de Weil Félix.

Hay tres especies que causan infecciones oportunistas en el hombre: *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, y *P. penneri*. Causan infecciones urinarias (más del 10 % de complicaciones del tracto urinario incluyendo cálculos y lesiones celulares del epitelio renal), enteritis (especialmente en niños), abscesos hepáticos, meningitis, otitis media y neumonía con o sin empiema, entre otros. Es un frecuente invasor secundario de quemaduras y heridas, así como infecciones nosocomiales. (5)

Todas las especies de *Proteus* son resistentes a la ampicilina. *P. mirabilis* es sensible a la penicilina.

2.2.13. Meningitis.

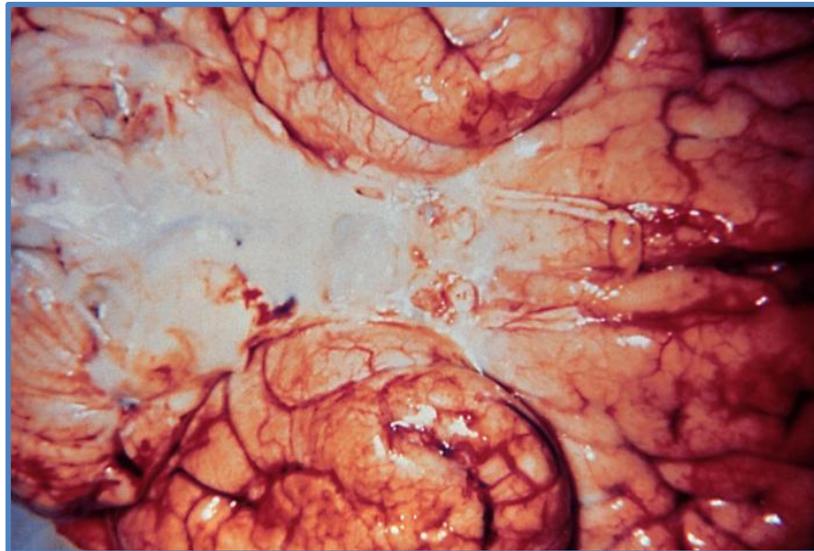
La meningitis es una inflamación de las membranas que rodean el cerebro y la médula espinal. Puede estar provocada por virus, hongos y bacterias, incluyendo *Listeria*, los estreptococos del grupo B y *E. coli*. (3) (5)

Los recién nacidos pueden contraer uno de estos patógenos durante el parto o bien del entorno, particularmente si tienen un sistema inmunitario debilitado que los hace más proclives a las infecciones. El 80% de las meningitis está causado por virus, entre el 15 y el 20 % por bacterias, el resto está originado por intoxicaciones, hongos, medicamentos y otras enfermedades.

La meningitis es poco frecuente pero potencialmente letal. Puede afectar al cerebro ocasionando inconsciencia, lesión cerebral y de otros órganos. La meningitis progresa con mucha rapidez, por lo que el diagnóstico y tratamiento precoz es importante para prevenir secuelas severas y la muerte.

Los síntomas de infección en los recién nacidos no son muy específicos y pueden incluir llantos inconsolables, irritabilidad, dormir más de lo habitual, somnolencia, falta de interés por mamar del pecho o tomar el biberón, temperatura corporal baja o inestable, ictericia, palidez, problemas respiratorios, erupciones, vómitos o diarrea. A medida que va avanzando la enfermedad, las fontanelas del bebé, o puntos blandos, pueden empezar a abultarse o sobresalir.

Fotografía Nº 3: Exudado inflamatorio purulento en la base del cerebro por una meningitis.



Fuente: www.wikipedia.org
Elaborado por: www.wikipedia.org

2.2.14. Candidiasis.

La proliferación de la levadura común del género *Cándida*, un hongo que se encuentra en el cuerpo de cualquier persona, provoca una infección fúngica denominada candidiasis. En los recién nacidos suele aparecer en forma de dermatitis del pañal, afectando principalmente a las nalgas y los genitales, pero los bebés también pueden desarrollar hongos en la boca o en la garganta. (5)

Provoca heriditas en las comisuras de la boca y puntos blancos en lengua, paladar, labios y cara interna de los pómulos. Los recién nacidos que padecen esta infección a menudo la han contraído al atravesar el canal del parto de una madre infectada o durante la lactancia materna. (5)

2.2.15. Vaginosis bacteriana.

La vaginosis bacteriana (VB) es una condición caracterizada por el reemplazo de los lactobacilos vaginales con otras bacterias, sobre todo microorganismos anaeróbicos, tales como *Gardnerella vaginalis* y *Prevotell*, *Peptostreptococcus* y *Bacteroides spp.* (11) (33)

Se identifica con una prevalencia que oscila entre el 10-40 %, de acuerdo a diferentes estudios, y se considera la infección vaginal más frecuente (Livengood, 2009; Mrazzazzo, 2011; Rampersaud et al., 2012).

Cabe mencionar que un número importante de investigadores considera a la vaginosis bacteriana como un complejo desequilibrio microbiano, no como una infección. (11)

La vaginosis bacteriana afecta a millones de mujeres en edad reproductiva. Está asociada a diversos problemas, tales como parto prematuro, enfermedad inflamatoria pélvica y endometritis pos-parto y pos-aborto, así como a un aumento en la susceptibilidad a diversos patógenos causantes de infecciones de transmisión sexual (ITS):

- ✓ *Neisseria gonorrhoeae*,
- ✓ *Trichomonas vaginalis*,
- ✓ *Chlamydia trachomatis*,
- ✓ Virus del papiloma humano,
- ✓ Virus de la inmunodeficiencia humana y,
- ✓ Otras infecciones como candidiasis.

Varias conductas de riesgo asociadas a infecciones de transmisión sexual coinciden en la vaginosis bacteriana. Sin embargo, las ITS típicas involucran habitualmente a un solo agente etiológico, con rutas claras de infección, en tanto que la VB involucra a múltiples microorganismos, la mayoría de los cuales puede detectarse, en bajas cantidades, en mujeres sin vaginosis. (Marrazzo, 2011).

2.2.16. Corioamnionitis.

Es una infección de las membranas placentarias y del líquido amniótico. Es poco frecuente, se presenta en un 1-2% de todos los embarazos, pero es más común en los partos prematuros puesto que la corioamnionitis puede causar bacteremia (infección en la sangre) en la madre y provocar un parto prematuro y una grave infección en el neonato.

Los organismos generalmente responsables de la corioamnionitis son los que normalmente se encuentran en la vagina, incluyendo la *Escherichia coli* (*E. coli*). Los estreptococos grupo B también pueden producir la infección. (22)

2.2.17. Ruptura prematura de membrana.

La ruptura prematura de membranas (RPM) es un trastorno que se produce en el embarazo cuando el saco amniótico se rompe más de una hora antes del inicio del trabajo de parto. Una RPM se prolonga cuando se produce más de 18 horas antes del trabajo de parto. (20) (40)

La ruptura de membranas es prematura cuando se produce antes del primer período del parto o período de dilatación.

La ruptura prematura de membranas suele ser causada por una infección bacteriana, por el tabaquismo o por un defecto en la estructura del saco amniótico, el útero o cérvix y también por las relaciones sexuales y la presencia de dispositivos Intrauterinos (DIU).

En algunos casos, la ruptura se puede curar espontáneamente, pero en la mayoría de los casos de RPM, el trabajo de parto comienza en las primeras 48 horas. Cuando esto ocurre, es necesario que la madre reciba tratamiento para evitar una posible infección en el recién nacido. (22)

2.2.17.1. *Etiología.*

Se ha observado que la zona donde se produce la rotura de las membranas ovulares es pobre en colágeno III, está edematizada con depósito de material fibrinoide, un adelgazamiento en la capa trofoblástica y decidua.

Bajo esas circunstancias de estimulación inmune, resulta que la elastasa de los granulocitos es específica para digerir ese tipo de colágeno, un cuadro característico en la corioamnitis. (33) (35)

Adicionalmente, las células deciduales, especialmente si hay bacterias, sintetizan prostaglandinas E2 y F2-alfa, que estimulan las contracciones uterinas, por lo que una combinación de corioamnitis e infección bacteriana son factores altamente predisponentes a una RPM.

Se ha encontrado asociación entre estados emocionales de miedo en una población y rotura prematura de membranas.

Las mutaciones en los genes COL5A1, COL5A2, COL3A1, COL1A1, COL1A2, TNXB, PLOD1, ADAMTS2, CRTAP, LEPRE1 y ZMPSTE24 puede aumentar el riesgo de rotura prematura de membranas. (35)

2.2.17.2. *Diagnóstico.*

La evaluación inicial de la rotura prematura de membranas en un feto pretérmino debe incluir un examen con espéculo estéril para documentar hallazgos sospechosos de la patología.

También es frecuente que se envíen cultivos cervicales, incluyendo *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, así como cultivos anovaginales para *Streptococcus agalactiae*. Con la ecografía se documenta la edad gestacional, peso fetal, presentación fetal y se establece el índice de líquido amniótico. (9)

También se puede realizar la determinación del pH vaginal con papel de tornasol o Nitracina, el que cambia de color ante la presencia de líquido amniótico. En estas pacientes se evita el tacto digital, pero la inspección visual del cuello uterino puede estimar con precisión la dilatación del mismo.

Otras pruebas de diagnóstico son la prueba de Neuhaus y la de evaporización ante la sospecha de RPM. (9)

Se ha demostrado que el tacto manual y digital del cuello uterino con en pacientes con RPM reduce el período de latencia y aumenta el riesgo de infecciones, sin aportar información de verdadera utilidad clínica. (9) (22)

2.2.17.3. *Tratamiento.*

Un estudio ha determinado que cuando se registra una alta concentración de lactato en la filtración del líquido amniótico resulta ser un fuerte indicador de que una mujer que con una RPM también comenzará su trabajo de parto dentro de las próximas 48 horas. (4) (29)

Esta asociación puede llevar a pruebas cuantitativas de ácido láctico que podría ayudar al médico a tomar la decisión de mantener o no en el hospital a una mujer que refiere una RPM.

En caso de que se presente una corioamnionitis en el momento de la RPM, se indica terapia con antibióticos para evitar la sepsis neonatal, y se indica el parto. Si no se ha instalado una corioamnionitis, la pronta terapia con antibióticos puede retrasar el parto, lo que le da al feto tiempo crucial para terminar de madurar.

Si después de la evaluación inicial de la madre y el feto, se determina que ambos se encuentran clínicamente estables, se suele preferir una conducta expectante ante una RPM pretérmino -especialmente entre las 28 y 34 semanas-, pues se ha demostrado que mejora los resultados fetales. (9)

El principal riesgo materno con el manejo expectante de una RPM pretérmino es la infección, que incluye:

- Corioamnionitis (13-60 % de los casos),
- Endometritis (2-13 % de los casos),
- Sepsis (<1%) y,
- Muerte materna (1-2 casos por cada 1000).

Las complicaciones relacionadas con la placenta incluyen placenta previa (4-12 % de los casos) y placenta retenida o hemorragias pos-parto que requieren curaciones a nivel útero (12 % de los casos).

2.2.17.4. *Complicaciones.*

Una de las complicaciones más frecuentes de parto prematuro es el parto pretérmino. El período de latencia, que es el tiempo de ruptura de membranas hasta el parto, por lo general es inversamente proporcional a la edad gestacional en que se produce la RPM. (1)

Por ejemplo, un extenso estudio en pacientes con embarazos a término reveló que el 95 % de las pacientes dieron a luz dentro de aproximadamente un día del RPM, mientras que un análisis que incluía la evaluación de pacientes con embarazos pretérminos entre 16 y 26 semanas de gestación determinó que el 57 % de los pacientes dio a luz al cabo de una semana promedio, y 22 por ciento tenían un periodo de latencia de cuatro semanas. (2) (22)

Cuando la RPM ocurre demasiado pronto, los recién nacidos que sobreviven pueden desarrollar, la compresión del cordón, oligohidramnios, enterocolitis necrotizante, deterioro neurológico, hemorragia intraventricular y síndrome de dificultad respiratoria.

2.2.18. Virus del papiloma humano y condilomas.

Los virus del papiloma humano (VPH) constituyen uno de los principales motivos de enfermedades de transmisión sexual (ETS). Los expertos calculan que 24 millones de norteamericanos están infectados. Existen más de 60 tipos de VPH, de los cuales un tercio se contagian por vía sexual. Aparte del problema de la infección, estos virus están relacionados con el cáncer genital. Al igual que ocurre con otras ETS, los VPH no provocan síntomas ni producen lesiones evidentes. Esta situación determina que la infección se extienda a otros sin que se detecten alteraciones. (30)

2.2.19. Condilomas.

Los condilomas acuminados o verrugas venéreas se producen por algunos tipos de VPH. En cambio las verrugas de otras partes del cuerpo se producen por otros virus.

Los condilomas acuminados se transmiten por contagio sexual, apareciendo dentro de los 3 meses del contacto con el enfermo. En Estados Unidos se calcula que cada año se diagnostican un millón de casos nuevos. En la mujer los condilomas aparecen en los labios vulvares, vagina, cuello uterino o cerca del ano. (31)

En el varón aparecen en el pene y en el escroto, y en la proximidad anal si tiene relaciones homosexuales. La evolución de las lesiones es imprevisible: pueden desaparecer, crecer o permanecer estables. (31)

2.2.20. Otros microorganismos.

2.2.20.1. Enterobacterias.

Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. (30) Hoy en día los avances de la perinatología han hecho que nazcan y sobrevivan RN muy prematuros y estos RN son muy susceptibles a las infecciones incluyendo las de transmisión vertical.

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Actualmente es materia de preocupación la aparición de infección en estos RN prematuros causadas por bacterias entéricas resistentes, fundamentalmente *E. coli*.

La infección del RN por bacterias entéricas resistentes puede estar favorecida por el uso abusivo de antibióticos en la madre, sobre todo después de la rotura de membranas, por ello se debe ser muy prudente con la utilización prolongada de antibióticos en estas circunstancias. (25)

Respecto a cuándo se detecta *E. coli* o *H. influenzae* de forma abundante colonizando la vagina, se ha visto que está asociado a mayor morbilidad materna y neonatal, pero no está establecida en protocolos actuales la utilidad de la intervención en estos casos. Sí debe tenerse en cuenta si se presentan factores de riesgo como fiebre intraparto, RPM, parto pre-término o signos de infección neonatal, valorándose el uso de antibióticos en la madre y/o en el recién nacido de acuerdo a estos datos.

En caso de exudado vaginal positivo por *Escherichia coli* sensible a ampicilina se utilizará como profilaxis ampicilina 2 g. IV, seguidos de 1 g. IV cada 4 horas hasta el expulsivo. (5)

2.2.20.2. *Infección causada por Ureaplasma urealyticum.*

Ureaplasma urealyticum, se encuentra en la vagina del 40 al 80 % de las mujeres sanas, siendo la tasa de transmisión vertical, del 20 al 50 %; la colonización del RN normalmente, es transitoria pero *U. urealyticum*, es capaz de causar neumonía en el feto y RN, especialmente en los prematuros o de muy bajo peso (menor de 1.250 g). Así mismo la infección del RN por *U. urealyticum* se relaciona con el desarrollo de enfermedad pulmonar crónica en el RN de muy bajo peso.

2.2.20.3. *Microorganismos de ETS.*

En las mujeres de alto riesgo para ETS, (< 20 años, sin pareja estable, etc.), así como en las que presentan síntomas de infección genital, y sobre todo en mujeres procedentes de países en vías de desarrollo se debería descartar ETS al menos una vez en la gestación (CDC), ya que están asociadas a morbilidad materna y neonatal.

C. trachomatis produce conjuntivitis y neumonitis en el recién nacido, y Amnionitis, endometritis posparto, etc. *N. gonorrhoeae* produce conjuntivitis y sepsis neonatal, además de infecciones perinatales en la madre. (26)

La colonización vaginal por *Cándida spp.* en las gestantes se asocia a muguet del recién nacido por lo que debe tratarse tópicamente a la madre antes del paso del RN por el canal del parto, sobre todo en pre-términos y RN de bajo peso donde puede producirse una diseminación de las Cándidas a partir de la piel, orofaringe. Existe gran debate respecto a cómo afecta la vaginosis bacteriana al curso de la gestación, no habiéndose llegado a ningún acuerdo sobre si debe o no hacerse detección sistemática, ya que hay estudios que la asocian a parto pre-término y a mayor morbilidad materna y fetal. (25)

2.2.21. Aspectos anatómicos y fisiológicos de la vagina.

La vagina contiene un espacio virtual de aproximadamente 7.5 cm de longitud. Está constituida por tres capas: capa externa de tejido areolar, capa media de músculo liso y capa interna representada por mucosa del tipo II, caracterizada por epitelio escamoso estratificado (no queratinizado), en el que se identifican bajos números de células inmunes sub-epiteliales. (11) El líquido que lubrica a la vagina es secretado por las glándulas de Bartholin, las cuales se encuentran localizadas cerca del orificio vaginal y en el cérvix. En el periodo entre la pubertad y la menopausia el pH de la vagina está entre 3.5 y 4.5. Los principales isotipos de anticuerpos presentes son IgG y una baja concentración de IgA. (32)

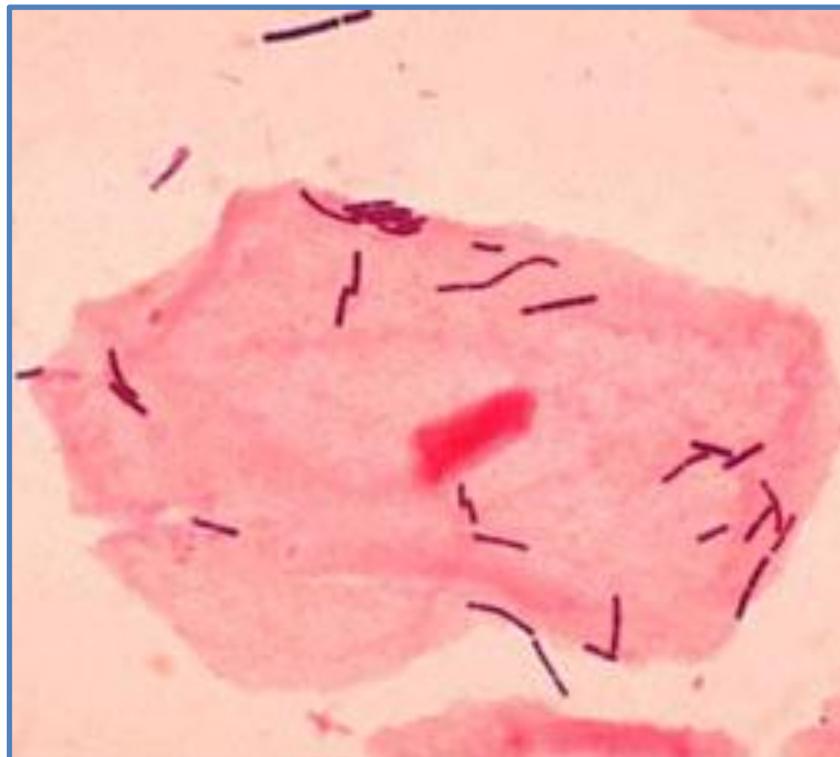
En la zona de transformación Endocérvix/ectocérvix, el epitelio estratificado se transforma en epitelio columnar, con presencia importante de células inmunes, principalmente Cd4+. El moco secretado por la vagina está compuesto principalmente por glucoproteínas, mucopolisacáridos, electrolitos y agua. La mucosa de la vagina, además de proveer los nutrientes necesarios para la microbiota vaginal, también contiene receptores para la microbiota. (32)

2.2.22. Agentes etiológicos.

Se desconocen las causas de la VB. No obstante, varios autores han identificado una gran diversidad de factores de riesgo y hábitos asociados. Los estudios basados en el cultivo bacteriano muestran, en su mayor parte, una disminución en la concentración de especies de *Lactobacillus* y un aumento importante en la concentración de bacterias anaerobias estrictas como son:

- *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* spp., *Mobiluncus* spp., *Ureaplasma urealyticum* y, *Mycoplasma hominis*.

Imagen Nº 1: Lactobacillus spp. en célula epitelial vaginal.



Fuente: www.wikipedia.org
Elaborado por: www.wikipedia.org

Imagen N° 2: Bacterias adheridas a células epiteliales vaginales.



Fuente: www.wikipedia.org
Elaborado por: www.wikipedia.org

2.2.23. Factores de riesgo.

Varias actividades humanas normales se asocian a una desestabilización de las comunidades microbianas vaginales, lo que puede redundar en una mayor vulnerabilidad:

- ✓ actividad sexual frecuente,
- ✓ múltiples compañeros sexuales,
- ✓ sexo oral receptivo frecuente,
- ✓ empleo de duchas y,
- ✓ espermicidas.

2.2.24. Cuadro clínico.

Se estima que alrededor del 40-50% de las mujeres con VB cursan asintomáticas.

Las manifestaciones son variables: aumento en la descarga vaginal, de color grisáceo o blanquecino, de consistencia lechosa. El signo clásico consiste en un olor fétido, referido por las pacientes como "olor a pescado", que es causado por la producción de aminas (trimetilamina, putrescina, cadaverina, entre ellas) por las bacterias anaerobias. (40)

Algunos autores consideran a la menstruación como una posible etapa de inestabilidad de la microbiota habitual. (Hickey R.J. et al., 2012). Estas aminas se volatilizan cuando aumenta el pH, lo cual sucede en presencia de semen, por lo que el olor puede intensificarse después de una relación sexual.

También se reportan sensación de picazón, quemadura, dolor, mismos que pueden confundirse con otras causas de vaginitis. (29)

Habitualmente no se aprecian signos de inflamación y el cérvix se observa normal. Cuando se asocia cervicitis, esta se debe en general, a otros patógenos. (Livenwood. 2009; Sobel. 2000).

2.2.25. Complicaciones.

Incluyen secreción transvaginal continua, fétida, recurrencias, asociación con infecciones de transmisión sexual, aborto, infertilidad, parto prematuro, corioamnionitis, enfermedad inflamatoria pélvica e infección de vías urinarias. (Marazzo. 2011).

2.2.26. Diagnóstico.

Las pruebas diagnósticas de vaginosis bacteriana se dividen en dos categorías a saber; criterio clínico (de Amsel) y criterio basado en laboratorio (de Nugent).

En ambos casos se requiere de la toma muestra de secreción vaginal con un hisopo estéril. La VB categorizada por los criterios de Amsel incluye cuatro características, de las cuales al menos tres parámetros deben estar presentes para poder hacer el diagnóstico:

- a)** Descarga transvaginal lechosa de color grisáceo o amarillento,
- b)** pH vaginal de más de 4.5;
- c)** Prueba de aminas positiva (cuando se le agrega una solución alcalina - KOH al 10% a la secreción vaginal, esta emite un olor fétido similar al que produce el pescado) y,
- d)** Presencia de grupos de células de descamación, llamadas células clave.

El sistema de Nugent clasifica la microbiota vaginal en normal, intermedia y VB, para lo cual se cuantifican los lactobacilos y otros dos morfotipos:

- ✓ cocobacilos Gram variable/ gramnegativos, característicos de *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* spp., respectivamente y,
- ✓ bacilos Gram variable curvos que caracterizan a *Mobiluncus* spp.

El análisis microscópico se considera de elección debido a que hasta el 50% de las mujeres con VB puede ser asintomático.

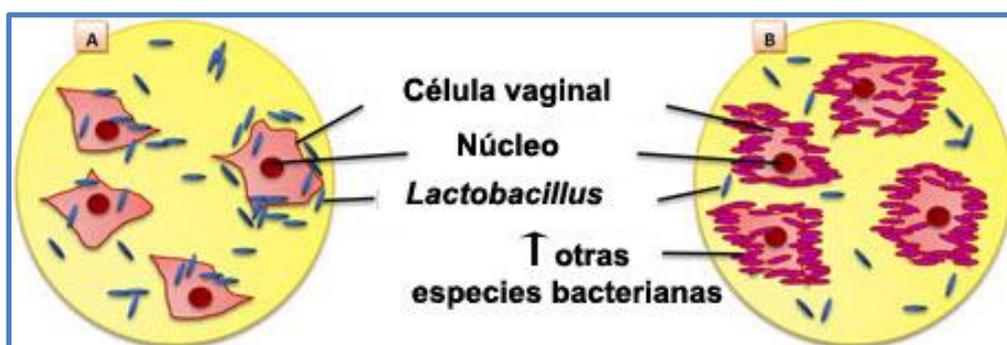
Si la tinción de Gram no se encuentra disponible, el método de diagnóstico al que se recurre con mayor frecuencia es el de los criterios de Amsel. (Huppert et al., 2012).

Tabla N° 1: Criterios de diagnóstico.

Muestra	Normal	Vaginosis bacteriana	Vaginitis por <i>Trichomonas</i>	Vulvo-vaginitis por <i>Cándida</i>
H vaginal	< 4.5	> 4.5	> 4.5	< 4.5
Flujo vaginal	Claro o blanco flocular	Blanco, grisáceo, homogéneo	Amarillo, verdoso, homogéneo, con frecuencia espumoso	Blanco, en agregados adherentes
Prueba de aminas (olor a pescado)	No	Sí	Sí	No
Microbiota vaginal	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Gardnerella vaginalis</i> Micoplasmas y anaerobios	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>C. albicans</i> y otras levaduras
Examen microscópico	Células epiteliales, predominio de <i>Lactobacillus</i> .	Células "clave". Escasos polimorfonucleares, flora mixta	<i>Trichomonas vaginalis</i> , leucocitos	Levaduras, pseudo-micelios leucocitos, células epiteliales.

Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Figura Nº 1: Alteraciones de la microbiota vaginal.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Actualmente se ha incrementado el uso de técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual consiste en amplificar genes de algunas especies bacterianas usando iniciadores (primers) específicos; este método es rápido, confiable y con una alta sensibilidad y especificidad.

Las herramientas moleculares ofrecen la oportunidad de estudiar los factores que influyen la microbiota vaginal y la influencia de esta microbiota en la salud humana. (Fredricks. 2011).

En el diagnóstico diferencial deben considerarse: Candidiasis, infección clamidial, infección gonocócica, infección por *Herpes simple*, tricomoniasis, vaginitis de diferente etiología, y cervicitis.

2.2.27. Tratamiento.

Los antibióticos con actividad anaerobia son efectivos. El metronidazol y la clindamicina son los más utilizados. El tratamiento habitual contra la VB consiste en metronidazol oral durante 5 - 7 días. El porcentaje de curación alcanza hasta un 95% pero no se modifica la posibilidad de recurrencias.

Se autorizan los tratamientos tópicos intravaginales a base de clindamicina o geles de metronidazol. Son más costosos y tienen una eficacia similar. En algunos casos se sugieren probióticos. Se han propuesto lactobacilos vaginales y gel de ácido láctico para acidificar la vagina. (Hay. 2010).

2.2.28. Amnionitis.

Inflamación aguda de las membranas de la placenta (Amnios y Corion) que se acompaña de la infección del contenido amniótico; esto es, feto, cordón umbilical y líquido amniótico. Se origina típicamente por el ascenso de múltiples bacterias, presentándose con mayor frecuencia en pacientes con ruptura prematura de membranas y parto pre-término espontáneo. La corioamnionitis se define tradicionalmente en dos clasificaciones principales:

- Histológica, basada en la evidencia microscópica de la inflamación de las membranas y,
- Clínica, basada en las manifestaciones clínicas de la inflamación local y sistémica.

La infección puede transcurrir con las membranas intactas especialmente en el caso de Ureaplasma y Mycoplasma hominis, que se encuentran en el tracto genital inferior en más del 70 % de las mujeres. En raras ocasiones la infección es generada por vía hematogena como en el caso de Listeria monocytogenes.

2.2.29. Concepto y expresión matemática del crecimiento bacteriano.

Entendemos por crecimiento microbiano, el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo.

Por lo tanto, no nos referimos al crecimiento de un único microorganismo (ciclo celular) sino al demográfico de una población. En este tema nos centraremos en el crecimiento de bacterias, el estudio que se hace puede servir también para entender el crecimiento de levaduras y de otros hongos. El crecimiento de los virus se produce de otra forma.

Denominamos ciclo celular al proceso de desarrollo de una bacteria considerada de forma aislada. A lo largo del ciclo celular, tiene lugar la replicación del material de la bacteria, la síntesis de sus componentes celulares, el crecimiento para alcanzar un tamaño doble del inicial y su división por bipartición de la bacteria para dar lugar a dos células hijas.

La duración del ciclo celular coincide con el tiempo de generación y depende, en general, de los mismos factores de los que depende este.

El crecimiento de una población resulta de la suma de los ciclos celulares de todos sus individuos. Este crecimiento suele ser asincrónico puesto que cada microorganismo se encuentra en un punto diferente del ciclo celular. Por consiguiente, en un momento determinado en una población se encuentran células que acaban de dividirse, otras que están replicando su ADN y elongándose, otras que están iniciando la división celular, etc.

En un crecimiento sincrónico todas las células se encuentran simultáneamente en la misma fase del crecimiento celular. Los cultivos sincrónicos son muy difíciles de mantener por lo que su importancia está principalmente ligada a los estudios básicos de biología microbiana.

Sin embargo, en la naturaleza, las bacterias del suelo se encuentran en condiciones de crecimiento próximas a la fase estacionaria (en la que se produce una cierta sincronización del cultivo) y, por consiguiente, durante cierto tiempo las poblaciones naturales probablemente se comporten como relativamente sincrónicas.

Las poblaciones de bacterias pueden crecer de una forma explosiva acumulando grandes números en un periodo de tiempo muy reducido.

Puesto que el efecto nocivo (infecciones o intoxicaciones) de los microorganismos depende de su número en la mayoría de los casos, entender cómo se produce el crecimiento microbiano es importante para poder evitar o reducir dichos efectos nocivos. (20)

Se denomina crecimiento equilibrado, a aquél en el que toda la biomasa, número de células, cantidad de proteínas, de ADN, etc., evolucionan en paralelo. El crecimiento equilibrado probablemente ocurra en muy contadas ocasiones en condiciones naturales. Por lo tanto, es principalmente un concepto de aplicación en el laboratorio. Sin embargo, es útil porque permite estudiar el crecimiento microorganismos.

Las bacterias crecen siguiendo una progresión geométrica en la que el número de individuos se duplica al cabo de un tiempo determinado denominado tiempo de generación (τ).

De esta forma, podemos calcular el número de bacterias (N) al cabo de un número de generaciones (n) usando la ecuación siguiente:

$$N = N_0 2^n$$

Siendo N_0 el número de células en el momento actual.

El número de generaciones se puede calcular de la siguiente forma:

$$n = t / \tau$$

Donde t es el tiempo transcurrido.

Los tiempos de generación de bacterias creciendo en ambientes favorables pueden ser muy cortos (valores de τ de 20 min).

Esto lleva a que una única célula ($N_0 = 1$) creciendo con un $\tau = 20$ min, llegue a poder producir 4.7×10^{21} células en 24 horas.

Si la bacteria crece en un medio líquido, las células que se producen en cada división continúan su vida independientemente en la mayoría de los casos formando una suspensión de células libres.

Cuando una célula aislada comienza a crecer sobre un substrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una colonia.

Se denomina unidad formadora de colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas y produce una colonia en un breve lapso de tiempo. (16)

Una UFC también puede corresponder a más de una célula cuando éstas forman parte de grupos unidos fuertemente (estreptococos o diplococos, por ejemplo) ya que cada grupo formará una sola colonia.

Cuando algunos tipos de bacterias o de levaduras patógenas crecen sobre superficies forman biopelículas (biofilms) en los que las células se asocian entre sí mediante capas de polisacáridos que forman una película que recubre la superficie sobre la que se encuentran las células. (16)

Los biofilms son importantes porque los microorganismos que los forman resultan más resistentes a antibióticos y al ataque de células del sistema inmune y, por consiguiente, las infecciones que producen son más difíciles de tratar.

Además, dentro de los biofilms (que pueden estar formados por microorganismos de diferentes especies) se facilita la transferencia horizontal de genes entre lo que facilita la dispersión de factores de virulencia o de resistencias a antibióticos.

La presencia de biopelículas es un problema serio en los implantes ortopédicos, catéteres, etc.

El sarro de los dientes es un ejemplo de biofilm. Cuando las bacterias crecen como unidades aisladas se habla de crecimiento planctónico para diferenciarlo del crecimiento formando un biofilm.

Se denominan factores de virulencia a las características de un microorganismo que le permiten causar una enfermedad. Los factores pueden ser proteínas que faciliten el ataque al huésped, que permitan resistir la acción del sistema inmune, etc.

La formación de biofilms es importante en la génesis de diferentes patologías. Se están identificando genes que controlan el cambio de crecimiento libre (crecimiento planctónico) a crecimiento en forma de biofilm en distintos tipos de bacterias. Por ejemplo, se han identificado genes de este tipo en *Pseudomonas aeruginosa* que son responsables del aumento de la cronicidad de las infecciones con este patógeno.

En otros microorganismos (tales como *Streptococcus mutans*) la formación de biofilms se ha asociado a la presencia de señales de quórum, de manera que bacterias competidoras de *S. mutans* son capaces de eliminar estas señales y reducir la formación de la biopelícula. (15)

Algunas bacterias que comparten un mismo espacio físico pueden comunicarse entre sí mediante lo que se denomina señales de quórum. Estas son moléculas simples excretadas por las células. Cuando el número de células aumenta, la concentración de la señal de quórum también lo hace. Las células tienen receptores para estas señales de quórum que reaccionan en función de la concentración de la señal. (22)

De esta forma, cuando la concentración de la señal de quórum es mayor, la respuesta es mayor. De esta forma, el comportamiento de una célula depende de que se encuentre sola o acompañada.

Las señales de quórum pueden ser reconocidas por especies diferentes de las emisoras. También hay bacterias capaces de degradar las señales de quórum de otras especies para interferir su comunicación.

El estudio de las señales de quórum permite desarrollar productos que dificultan su formación. Por ejemplo, dentífricos con productos anticarro.

2.2.30. Concepto de muerte de un microorganismo.

Desde el punto de vista microbiológico, un microorganismo muere cuando pierde de forma irreversible la capacidad de dividirse. El fundamento de esta definición es que si un microorganismo ha perdido la capacidad de dividirse no podrá formar una colonia sobre un medio de cultivo y no será posible detectar su presencia por los métodos microbiológicos tradicionales. (22)

Es decir, cuando no se produce aumento en el número de microorganismos no hay crecimiento. Sin embargo, un microorganismo puede estar muerto desde el punto de vista microbiológico y continuar desarrollando una actividad metabólica que se traduzca, por ejemplo, en liberación de toxinas (p.ej. el *Escherichia coli* es capaz de interferir la señal de quórum que permite a la bacteria patógena *Vibrio cholerae* calcular el tamaño de la población. (15)

Esto es importante porque cuando la población de *V. Cholerae* es grande, se inhibe la producción de la toxina colérica y el patógeno se desprende del intestino para buscar nuevos individuos que infectar. Por lo tanto, la acción de *E. coli* afecta la patogenicidad de *V. Cholerae*).

Por otra parte, hay que considerar que la capacidad de multiplicación (crecimiento) de un microorganismo puede verse transitoriamente afectada por lesiones o por las condiciones físicas o químicas del entorno. En estos casos, podríamos considerar como muertos microorganismos que pueden reanudar su crecimiento si las condiciones son de nuevo favorables. (23)

2.2.31. Qué necesita un microorganismo para crecer.

El aislamiento de bacterias a partir de muestras naturales se realiza, en la mayoría de los casos, mediante la producción de colonias aisladas en cultivos sólidos.

El crecimiento explosivo de las bacterias produce un gran número a partir de una única célula inicial de forma que, tras un periodo de tiempo de incubación en las condiciones ambientales adecuadas, se produce una colonia de individuos iguales.

Para crecer, un microorganismo necesita nutrientes que le aporten energía y elementos químicos para la síntesis de sus constituyentes celulares. Dependiendo de la fuente de carbono que utilizan, los microorganismos se pueden clasificar en autótrofos si es el CO₂ atmosférico (microorganismos que fotosintetizan) y heterótrofos si utilizan carbono orgánico.

Los microorganismos de importancia clínica son todos ellos heterótrofos. La fórmula elemental de un microorganismo es, aproximadamente, C₄H₇O₂N lo que supone que los componentes de las células son:

- ✓ Carbono que representa alrededor del 50% del peso seco,
- ✓ Oxígeno (32%), Nitrógeno (14%) y debe estar disponible, normalmente, en forma de NH₄ o de aminoácidos a los que se pueda tomar su grupo amino;
- ✓ Fósforo (3%) y debe estar en forma de PO₄³⁻, azufre que representa en torno al 1% y procede de aminoácidos sulfurados o de SO₄²⁻ y,
- ✓ Otros elementos: Fe, K, Mg, Mn, Co, Mb, Cu y Zn.

La elaboración de medios de cultivo que permitan aislar microorganismos a fin de iniciar posteriores cultivos puro o axénicos requiere proporcionar los nutrientes antes citados y, en ciertos casos, algunos aminoácidos o vitaminas que determinados tipos de microorganismos no pueden sintetizar. Los medios de cultivo se pueden clasificar en definidos cuando su composición química se conoce totalmente y complejos cuando no es el caso porque están compuestos por mezclas de extractos de materiales complejos (extracto de levadura, extracto de carne, etc.). (22) (25)

Por otra parte, los medios de cultivo pueden ser líquidos o bien sólidos si se añade algún agente solidificante que no sea consumible por los microorganismos (normalmente agar). En función de los microorganismos que pueden crecer en ellos, los medios pueden ser:

- ✓ Selectivos cuando favorecen el crecimiento de ciertos microorganismos mientras suprimen el de otros (por ejemplo, el medio SPS para clostridios),
- ✓ Diferenciales cuando alguno de sus componentes permite identificar las colonias de un tipo de microorganismos (p.ej. medios con hematíes para identificar colonias de microorganismos hemolíticos) y,
- ✓ Selectivo-diferenciales cuando combinan las dos características anteriores (p.ej. el agar de Mac Conkey para identificar *Escherichia coli*), y medios de enriquecimiento que permiten aislar un tipo determinado de microorganismo a partir de una mezcla una población mixta de gran tamaño.

2.2.32. Detección y medida del crecimiento.

Existen diferentes sistemas para detectar y medir el crecimiento de microorganismos. Los principales, se enumeran a continuación:

2.2.32.1. Recuento directo.

Consiste en la observación al microscopio de volúmenes muy pequeños de suspensiones de bacterias. Se usan unos portaobjetos especiales denominados cámaras de Petroff-Hausser. Para que la medida sea correcta es necesario que la densidad de células sea del orden de 10⁵ por ml.

2.2.32.2. Medida de la masa de células.

El sistema se basa en que las células en suspensión dispersan la luz causando la turbidez del cultivo.

La turbidez depende de la masa en suspensión y, por tanto, midiendo esta se puede estimar aquella. Este es el parámetro de medida más fácil de usar en los cultivos de laboratorio

Atención: La densidad de células debe ser del orden de 105 por ml.

2.2.32.3. Recuento de viables.

Consiste en sembrar un volumen determinado de cultivo o muestra sobre el medio de cultivo sólido adecuado para estimar el número de viables contando el número de colonias que se forman puesto que cada una de estas deriva de una UFC.

Atención: Para que la medida sea correcta desde el punto de vista estadístico, es necesario contar más de 300 UFC.

En ciertas ocasiones en las que la densidad de microorganismos es demasiado baja, éstos se pueden recolectar por filtración a través de una membrana (de 0.2 μm de tamaño de poro) y posterior colocación de la membrana en un medio de cultivo adecuado para que se formen las colonias.

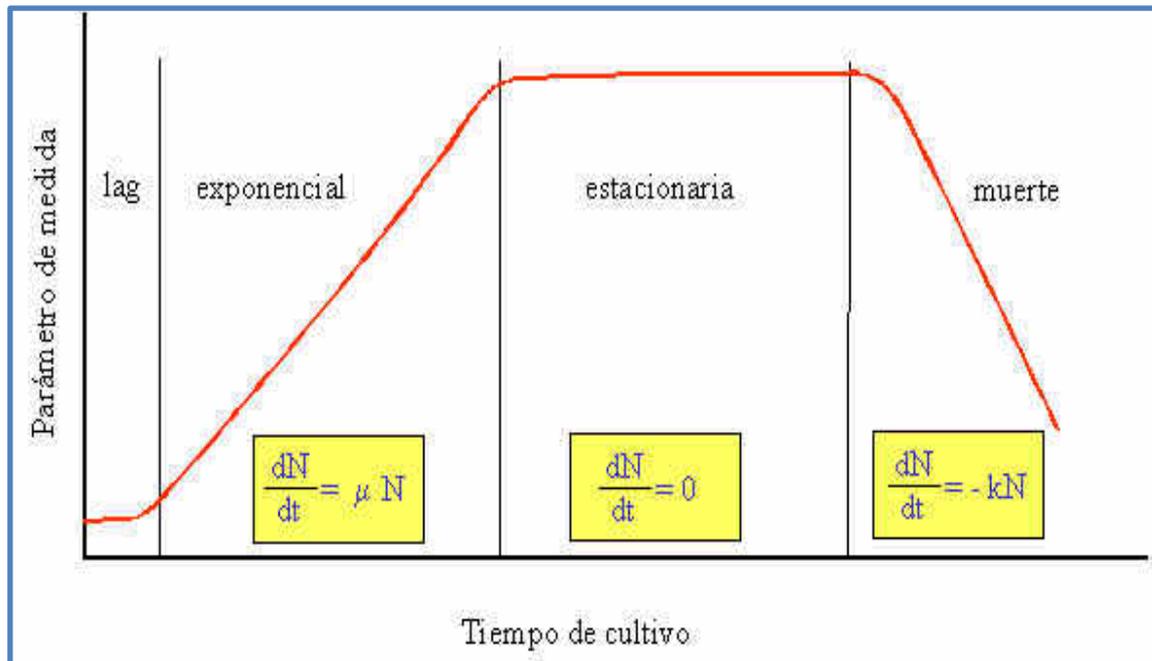
- ✓ Medida del número de partículas usando contadores electrónicos de partículas. Estos sistemas no nos indican si las partículas corresponden a células vivas o muertas; pero nos pueden dar una idea del tamaño de las partículas.
- ✓ Medida de parámetros bioquímicos tales como la cantidad de ADN, ARN, proteínas, peptidoglicano, etc. por unidad de volumen.
- ✓ Medida de actividad metabólica de las bacterias como que respiran producen una disminución del potencial redox del medio en que se encuentran como consecuencia del consumo de oxígeno (utilización de colorantes sensibles a oxidación-reducción tales como el azul de metileno).

2.2.33. Ciclo de crecimiento de poblaciones.

En un cultivo bacteriano en medio líquido, se pueden diferenciar cuatro fases en la evolución de los parámetros que miden el crecimiento microbiano:

- Fase lag o de adaptación: Durante la que los microorganismos adaptan su metabolismo a las nuevas condiciones ambientales (de abundancia de nutrientes) para poder iniciar el crecimiento exponencial.
- Fase exponencial o logarítmica: en ella la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Durante esta fase las bacterias consumen los nutrientes del medio a velocidad máxima.
- La evolución del número de células durante esta fase se explica con el modelo matemático descrito anteriormente. Esta fase corresponde a la de infección y multiplicación dentro del organismo del agente infeccioso.
- Fase estacionaria: en ella no se incrementa el número de bacterias (ni la masa u otros parámetros del cultivo). Las células en fase estacionaria desarrollan un metabolismo diferente al de la fase de exponencial y durante ella se produce una acumulación y liberación de metabolitos secundarios que pueden tener importancia en el curso de las infecciones o intoxicaciones producidas por bacterias.

Gráfico N° 1: Ciclo de crecimiento de microorganismos.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Los microorganismos entran en fase estacionaria bien porque se agota algún nutriente esencial del medio, porque los productos de desecho que han liberado durante la fase de crecimiento exponencial hacen que el medio sea inhóspito para el crecimiento microbiano o por la presencia de competidores u otras células que limiten su crecimiento.

La fase estacionaria tiene gran importancia porque probablemente represente con mayor fidelidad el estado metabólico real de los microorganismos en muchos ambientes naturales.

- ❖ Fase de muerte: se produce una reducción del número de bacterias viables del cultivo.

Las fases, parámetros y cinética de crecimiento discutidas para el caso de los medios líquidos se presentan también en los sólidos.

La cinética de crecimiento, en este caso, solo se puede seguir utilizando unos sistemas de detección especiales siendo el más sencillo, la medida del número de células viables por unidad de superficie o por unidad de masa. (30)

2.2.34. Factores físicos y químicos que influyen en el crecimiento.

Temperatura: Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento adecuada. Si consideramos la variación de la velocidad de crecimiento en función de la temperatura de cultivo, podemos observar una temperatura mínima por debajo de la cual no hay crecimiento; a temperaturas mayores se produce un incremento lineal de la velocidad de crecimiento con la temperatura de cultivo hasta que se alcanza la temperatura óptima a la que la velocidad es máxima.

Por encima de esta temperatura óptima, la velocidad de crecimiento decae bruscamente y se produce la muerte celular. El aumento de la velocidad de crecimiento con la temperatura se debe al incremento generalizado de la velocidad de las reacciones enzimáticas con la temperatura.

Se denomina coeficiente de temperatura a la relación entre el incremento de la velocidad de reacción y el de temperatura. (5)

En términos generales, la velocidad de las reacciones bioquímicas suele aumentar entre 1.5 y 2.5 veces al aumentar 10 °C la temperatura a la que tienen lugar.

La falta de crecimiento a temperaturas bajas se debe a la reducción de la velocidad de las reacciones bioquímicas y al cambio de estado de los lípidos de la membrana celular que pasan de ser fluidos a cristalinos impidiendo el funcionamiento de la membrana celular. (30)

La muerte celular a altas temperaturas se debe a la desnaturalización de proteínas y a las alteraciones producidas en las membranas lipídicas a esas temperaturas. Es importante tener en cuenta que a temperaturas bajas, el metabolismo celular es lento y las células paran de crecer; aunque suelen morir.

Sin embargo, cuando la temperatura es superior a la óptima, se produce la muerte celular rápidamente y las células no pueden recuperar su capacidad de división si baja posteriormente la temperatura. Esto permite esterilizar por calor y no por frío. Hay varios tipos de microorganismos en función de sus temperaturas de crecimiento mínima, máxima y óptima.

Tabla Nº 2: Microorganismo en función de sus temperaturas.

Tipo de microorganismo	Temperatura mínima	Temperatura óptima	Temperatura máxima
Psicrófilo	< 5 °C	5 °C	12 a 15 °C
Psicrótrofo	5 °C	5 °C	25 a 30 °C
Mesófilo	5 °C	15 °C	45 °C
Termófilo	40 a 45 °C	55 a 60 °C	75 a 90 °C

Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Los microorganismos psicrótrofos son mesófilos que pueden crecer a temperaturas bajas. Por tanto, se les puede considerar como Psicrófilos facultativos.

Esto es importante desde el punto de vista aplicado porque cuando se encuentran contaminando alimentos, son capaces de crecer en condiciones de refrigeración (4 - 8°C) y de producir infecciones en los consumidores del alimento (30 - 35 °C).

Desde el punto de vista clínico, los microorganismos capaces de producir infecciones en pacientes son los mesófilos y algunos psicrótrofos ya que sus temperaturas óptimas de crecimiento coinciden con las corporales. (30)

Actividad de agua (a_w): Se denomina actividad de agua a la relación entre la presión de vapor de agua del substrato de cultivo (P) y la presión de vapor de agua del agua pura (P₀). El valor de la actividad de agua está relacionado con el de la humedad relativa (HR).

El valor de la actividad de agua nos da una idea de la cantidad de agua disponible metabólicamente. Por ejemplo: comparemos el agua pura donde todas las moléculas de agua están libremente disponibles para reacciones químicas con el agua presente en una disolución saturada de sal común (NaCl) donde una parte importante de las moléculas de agua participa en la solvatación de los iones de la sal disuelta. (40)

En este último caso, la actividad de agua mucho menor que en el primero, conforme aumenta la cantidad de solutos en el medio, disminuye su actividad de agua.

El agua es un substrato en muchas reacciones bioquímicas (proteasas y lipasas, por ejemplo). Cuando no hay agua disponible, estas reacciones se detienen y el metabolismo se para.

Esta falta de agua también detiene muchas de las enzimas que podrían degradar las estructuras biológicas. Por ello, las células que no crecen por falta de agua no mueren rápidamente: los sistemas de degradación tampoco funcionan y no las degradan.

Es decir: cuando un microorganismo se encuentra en un substrato con actividad de agua menor que la que necesita, su crecimiento se detiene.

Esta detención del crecimiento no suele llevar asociada la muerte del microorganismo, sino que éste se mantiene en condiciones de resistencia durante un tiempo más o menos largo. En el caso de las esporas, la fase de resistencia puede ser considerada prácticamente ilimitada. (40)

La gran mayoría de los microorganismos requiere valores de actividad de agua muy altos para poder crecer.

Los valores mínimos de actividad para diferentes tipos de microorganismos son, a título orientativo, los siguientes:

- Bacterias $a_w > 0.90$,
- Levaduras $a_w > 0.85$,
- Hongos filamentosos $a_w > 0.80$.

Como puede verse, los hongos filamentosos son capaces de crecer en substratos con actividad de agua menor (más secos) de la que permite el crecimiento de bacterias o de levaduras.

Por esta razón se puede producir la colonización de substratos con baja actividad de agua (por ejemplo, alimentos como el queso o almíbares o la piel) por mohos (hongos filamentosos) mejor que por bacterias.

En función de su tolerancia a ambientes con baja a_w , los microorganismos que pueden crecer en estas condiciones se clasifican en halotolerantes, halófilos y xerófilos según toleren o requieran condiciones salinas o hipersalinas, respectivamente. (4) (8)

La reducción de la actividad de agua para limitar el crecimiento bacteriano tiene importancia aplicada en industria alimentaria. La utilización de almíbares, salmueras y salazones reduce la actividad de agua del alimento para evitar su deterioro bacteriano. (39)

pH: Es un parámetro crítico en el crecimiento de microorganismos ya que cada tipo de microorganismo tiene un rango de pH en el que puede vivir adecuadamente, fuera de este rango muere.

El pH intracelular es ligeramente superior al del medio que rodea las células ya que, en muchos casos, la obtención de energía metabólica depende de la existencia de una diferencia en la concentración de protones a ambos lados de la membrana citoplásmica. El pH interno en la mayoría de los microorganismos está en el rango de 6,0 a 8,0.

Los rangos de pH tolerables por diferentes tipos de microorganismos son, también, distintos. Hay microorganismos acidófilos que pueden vivir a pH=1.0 y otros alcalófilos que toleran pH=10.0.

Hay que considerar que, como consecuencia del metabolismo, el pH del medio de crecimiento suele tender a bajar durante el cultivo. Por otra parte, la bajada del pH del medio que producen ciertos microorganismos les confiere una ventaja selectiva frente a otros competidores. (39)

Así, por ejemplo, las bacterias lácticas que producen grandes cantidades de ácido láctico como consecuencia de su metabolismo primario reducen el pH del medio a valores inferiores a los soportables por otras bacterias competidoras (llegan a bajar el pH del medio hasta 4.5).

De esta forma, las bacterias competidoras mueren y las lácticas se convierten en la población dominante. La bajada del pH se puede deber a varios factores, uno de los cuales es la liberación de ácidos orgánicos de cadena corta (fórmico, acético, láctico) por ciertas bacterias.

En este sentido, hay que tener en cuenta que la acción bactericida de estos ácidos orgánicos de cadena corta es más potente que la debida únicamente a la bajada del pH que producen. Esto es, los ácidos orgánicos de cadena corta son tóxicos para algunas bacterias por sí mismos.

El efecto letal del pH ácido sobre los microorganismos tiene aplicación en la conservación de alimentos acidificándolos. De esta forma, la adición de ácido acético en forma de vinagre permite la conservación de alimentos perecederos (escabeches, por ejemplo) y la producción de ácidos en el curso de fermentaciones naturales permite alargar la vida de los alimentos (p.ej. coles fermentadas).

Potencial redox: nos indica la capacidad del sustrato para aceptar o donar electrones, esto es: sus características oxidantes o reductoras. Uno de los factores que intervienen en el potencial redox, aunque no el único, es la concentración de oxígeno [O₂].

Hay microorganismos que requieren ambientes oxidantes para crecer, mientras que otros necesitan ambientes reductores. El metabolismo de ambos tipos de microorganismos presenta diferencias notables. (11)

El requerimiento de condiciones oxidantes o reductoras no debe confundirse con la necesidad de presencia o ausencia de oxígeno para que se produzca el crecimiento.

En general, cuando un microorganismo requiere un ambiente oxidante se dice que desarrolla un metabolismo oxidativo (o respirativo) mientras que los microorganismos que requieren ambientes reductores (o menos oxidantes) realizan un metabolismo fermentativo.

Un microorganismo es aerobio cuando necesita oxígeno para vivir y es anaerobio cuando o bien no lo necesita (anaerobios facultativos como las bacterias entéricas, o como *Saccharomyces cerevisiae*; o anaerobios aerotolerantes como las bacterias lácticas) o cuando muere en presencia de oxígeno (anaerobios estrictos como los clostridios). (11)

Hay microorganismos que, aunque viven en presencia de oxígeno, no son capaces de utilizarlo como aceptor final de electrones y deben desarrollar un metabolismo fermentativo (p.ej. *Streptococos*)

Por otra parte, hay microorganismos que pueden desarrollar ambos tipos de metabolismo. Esto es en presencia de oxígeno desarrollan un metabolismo oxidativo y en su ausencia, fermentativo. (11)

El rendimiento de los procesos fermentativos es menor que el de los respirativos: las bacterias y las levaduras crecen menos cuando lo hacen fermentando que cuando lo hacen respirando.

En el curso de ciertas reacciones metabólicas redox se forman compuestos altamente reactivos (radicales libres, formas superóxido) que pueden dañar las proteínas, membranas y ácidos nucleicos produciendo la muerte de las células. Las células se defienden de estos compuestos reactivos mediante las enzimas siguientes:

- ❖ Superóxido dismutasa (SOD) y catalasa.

Los anaerobios estrictos carecen de SOD y de catalasa o tienen niveles muy bajos de estas enzimas de forma que no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno. La detección de estas enzimas tiene valor taxonómico. (25)

2.2.35. Multiplicación de los virus.

Los virus no se consideran seres vivos, sin embargo afectan a todos los organismos, sean unicelulares o pluricelulares. Al no tener estructura celular ni metabolismo propio, los virus son considerados parásitos intracelulares obligados, de ahí que su ciclo de replicación transcurre necesariamente en el interior de una célula, que puede ser un organismo unicelular o perteneciente a cualquier individuo pluricelular. Al multiplicarse, los virus utilizan los sistemas enzimáticos y los componentes celulares de la célula infectada. (10) (28) El ciclo de multiplicación viral puede ser de dos tipos: lítico o lisogénico.

Los virus tienen un ciclo celular diferente al de los microorganismos de vida libre y por consiguiente, su forma de crecimiento y la cinética del proceso, son diferentes. Una vez que un virus infecta una célula (fases de adsorción y penetración) puede comenzar su proceso de multiplicación que requiere la liberación del material genético del virus (desnudamiento) síntesis de una serie de enzimas, la multiplicación de su material genético y la síntesis de las proteínas de su cápsida (síntesis vírica), el ensamblaje de nuevos viriones (maduración) y la liberación de estos al exterior. (5) (12)

Por consiguiente, desde el ingreso del virión en la célula huésped hasta la liberación de los nuevos viriones producidos como resultado de la infección, transcurre un periodo de tiempo en el que no es posible detectar la presencia de partículas víricas fuera de las células. A este periodo se le denomina fase de eclipse. Las fases de eclipse separan liberaciones explosivas de viriones.

2.2.36. Placas de agar.

Una placa de agar es una placa de Petri que contiene un medio de cultivo (comúnmente agar más nutrientes) usada en microbiología para cultivar microorganismos o pequeñas plantas como la briofita *Physcomitrella patens*.

Se pueden agregar compuestos como antibióticos, para hacer el medio selectivo. Microorganismos individualmente colocados en la placa crecerán en colonias individuales, cada réplica del microorganismo es genéticamente idéntico a su antecesor (excepto por la baja e inevitable tasa de mutación). Por lo tanto, la placa se puede usar para estimar la concentración de microorganismos en un cultivo o una solución de ese cultivo, usando un contador de colonias.

También se puede usar para generar cultivos genéticamente puros a partir de un cultivo mixto, con diferentes especies de microorganismos, usando una técnica llamada «estriado».

En esta técnica, una gota de del cultivo es tomada de la muestra, mediante un instrumento llamado «asa bacteriológica», estéril; después se distribuye la muestra sobre la superficie del medio de cultivo dibujando estrías (de ahí el nombre), dejando de esta forma un gran número de microorganismos al principio y una baja cantidad al final de colonias aisladas.

Luego, las colonias que crecieron pueden removerse individualmente con otra asa estéril, y así determinar a qué especie corresponde cada colonia individual.

Este método es además, usado prácticamente en todos los laboratorios de microbiología para hacer cualquier cultivo bacteriológico.

2.2.37. Tipos.

Como otros medios de cultivo, las formulaciones de agar usadas en placas pueden ser clasificadas como definidos e indefinidos. Un medio definido es aquel creado a partir de sustancias químicas individuales, requeridas específicamente por el microorganismo, así que la composición molecular exacta es conocida; mientras que un medio indefinido está hecho de productos naturales, donde la composición exacta es desconocida.

Las placas de agar pueden ser elaboradas como no selectivas, donde puede crecer cualquier organismo sin especificación, o pueden ser selectivas, donde solo crecen organismos específicos.

Esta especificidad, puede ser por un requerimiento nutricional (por ejemplo lactosa como única fuente de carbono, permitiendo crecer de esta manera solo microorganismo capaces de metabolizar lactosa), o agregando antibióticos u otras sustancias con el fin de volver al medio selectivo.

Esto se relaciona con las definiciones de medios definidos e indefinidos; los medios indefinidos hechos de productos naturales, contienen una gran variedad de moléculas orgánicas, y es más permisivo en sentido que provee de nutrientes a una amplia gama de microorganismos, mientras que los medios definidos pueden ser precisamente elaborados para seleccionar microorganismos con propiedades específicas.

Las placas de agar, también actúan como indicadores, donde los organismos no son seleccionados en base al crecimiento, sino por un cambio de color en algunas colonias, generalmente causada por la acción de una enzima del microorganismo, sobre un componente del medio.

2.2.37.1. *Agar sangre.*

Contiene sangre de mamíferos (generalmente oveja, conejo, humanos) a una concentración de 5 a 10%.

El agar sangre, es un medio enriquecido, diferencial, usado para aislar microorganismos fastidiosos y detectar actividad hemolítica.

La β -hemolisis, se manifiesta como una lisis y digestión completa de los eritrocitos que rodean la colonia, por ejemplo algunas bacterias del genero *Streptococcus*.

La α -hemolisis, aparece solo como lisis parcial (los eritrocitos, no son lisados completamente o la digestión no fue completa), por tanto la hemoglobina aparece como una halo verdoso alrededor de la colonia. Contiene extracto de carne, triptona, cloruro de sodio y agar.

2.2.37.2. *Agar chocolate.*

Es un tipo de agar sangre, donde las células sanguíneas han sido lisadas por calentamiento a 56 °C. El agar chocolate se usa para cultivo de bacterias respiratorias fastidiosas como por ejemplo *Haemophilus influenzae*. No contiene chocolate, solo es llamado así por la coloración.

2.2.37.3. *Agar Thayer-Martin.*

Agar chocolate diseñado para aislar *Neisseria gonorrhoeae*.

2.2.37.4. *Agar TCBS.*

TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa,) agar enriquecido, permite el crecimiento de todas las especies patógenas del género *Vibrio* spp.

2.2.38. **Medios bacteriológicos de uso general.**

2.2.38.1. *Agar bilis esculina con azida.*

Es usado para aislar *Enterococcus* así como *Streptococcus*

2.2.38.2. *Agar CLED (Agar cistina-lactosa deficiente en electrolitos).*

Es un medio de cultivo diferencial para aislar y contar las bacterias presentes en la orina. Favorece el crecimiento de los patógenos y contaminantes urinarios aunque, debido a la ausencia de electrolitos, impide la indebida proliferación de especies de *Proteus*)

2.2.38.3. *Agar entérico de Hektoen.*

Este es un medio ideal para el aislamiento selectivo de *Salmonella* y *Shigella*, a partir de heces y alimentos.

2.2.38.4. *Agar McConkey.*

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gramnegativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que fermentan lactosa (L+) de las no fermentadoras (L-) en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae se desarrollan en el mismo. Contiene sales biliares y cristal violeta, lo que inhibe el crecimiento de bacterias Grampositivas, lo que convierte en un medio diferencial poco selectivo.

2.2.38.5. *Agar Manitol salado.*

Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos. Es recomendado para el aislamiento de estafilococos patogénicos a partir de muestras clínicas, alimentos, productos cosméticos y otros materiales de importancia sanitaria.

También, este medio puede utilizarse para el cultivo de especies halófilas de *Vibrio*, si no se dispone de medios apropiados (TCBS Medio, Medio Marino, etc.), aunque algunas especies pueden no desarrollar.

2.2.38.6. *Agar Mueller-Hinton.*

Este medio de cultivo ha sido recomendado universalmente para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos. Además es útil con el agregado de sangre para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.

2.2.38.7. *Agar nutritivo.*

Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos. Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.

2.2.38.8. *Agar Önöz.*

El agar Önöz permite un diagnóstico bacteriológico rápido de Salmonella y Shigella. Las colonias son fácilmente diferenciables de otras Enterobacterias.

2.2.38.9. *Agar Feniletil alcohol.*

Este agar selecciona especies de Staphylococcus mientras inhibe bacilos Gram negativos como Escherichia coli, Shigella, Proteus, etc.

2.2.38.10. *Agar R2A.*

Agar inespecífico que imita el agua. Usado para análisis del agua.

2.2.38.11. *Agar Trypticase soya (TSA).*

TSA es un medio multiuso, producido por la digestión enzimática de soya y caseína. Es la base de otros tipos de agar, por ejemplo el agar sangre está hecho de TSA enriquecido con sangre.

TSA permite crecer muchas bacterias semifastidasas incluyendo algunas especies de Brucella, Corynebacterium, Listeria y Vibrio.

2.2.38.12. Agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato.

Es utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos entéricos Gram negativos, especialmente del género Shigella y Providencia.

2.2.38.13. Agar cetrimida.

Medio utilizado para el aislamiento selectivo de Pseudomonas aeruginosa y de otras especies del género Pseudomonas.

2.2.38.14. Agar Tinsdale.

Contiene telurito de potasio y puede aislar Corynebacterium diphtheriae.

2.2.38.15. Agar glucosado de Sabouraud.

El agar glucosado de Sabouraud es usado para cultivar hongos y tiene un pH bajo que inhibe el crecimiento de la mayoría de bacterias, además tiene un antibiótico (gentamicina) que inhibe específicamente el crecimiento de bacterias gramnegativas.

2.2.38.16. Agar Infusión Cerebro Corazón.

Es un medio muy rico en nutrientes, que proporciona un adecuado desarrollo microbiano. La infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona, son la fuente de carbono, nitrógeno, y vitaminas. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer.

2.2.38.17. Agar papa dextrosa.

Es un medio utilizado para el cultivo de hongos y levaduras a partir de muestras de alimentos, derivados de leche y productos cosméticos.

2.2.38.18. Agar extracto de malta.

Tiene un alto contenido de peptona.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

Ácido lipoteicoico o teicoico: Polímeros de glicerol o ribitol unidos mediante enlaces fosfodiéster. Estos ácidos se encuentran en la pared celular de las bacterias Gram positivas, tales como: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* y *Listeria*, extendiéndose sobre la superficie de la capa de peptidoglicano.

Ácido Nalidíxico: Antibiótico del grupo de las quinolonas, activa en contra de Gram negativas. A concentraciones menores actúa como bacteriostático, es decir, inhibe el crecimiento y reproducción bacteriana, sin matar el organismo.

Alogénica: Dícese de tejidos, células, suero, pertenecientes a un individuo de la misma especie pero no de la misma estirpe que la del individuo considerado.

Anafilaxia: Reacción alérgica con síntomas que varían de urticaria y picazón a problemas respiratorios y choque. Puede ser mortal en algunas personas.

Colonizado: Tener bacterias en el cuerpo que pueden causar infecciones pero sin presentar síntomas de una enfermedad.

Ectocérvix: Es la parte que se ve más fácilmente del cuello uterino a través de la vagina en una colposcopia. Está rodeado por los fondos de saco vaginales.

Endocérvix: No es visible en gran parte, porque se encuentra en el centro del cérvix formando el canal endocervical que une el orificio cervical externo (OCE) con la cavidad uterina.

Endosporas: Células especializadas, no reproductivas, producidas por unas pocas bacterias de la división Firmicute.

Enfermedad de transmisión sexual: Enfermedad que se propaga mediante el contacto sexual, por ejemplo: clamidia, gonorrea, verrugas genitales, herpes, sífilis e infección del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la causa del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Epitelios: Tejido formado por una o varias capas de células unidas entre sí, que puestas recubren todas las superficies libres del organismo, y constituyen el revestimiento interno de las cavidades, órganos huecos, conductos del cuerpo, así como forman las mucosas y las glándulas.

Glucoproteínas: Son moléculas compuestas por una proteína, unida a uno o varios hidratos de Carbono, simples o compuestos. Tienen entre otras funciones, el reconocimiento celular cuando están presentes en la superficie de la membrana plasmática.

Halófilos: Organismos que viven en medios con presencia de gran cantidad de sales.

Hipoxia: Estado en el cual el cuerpo completo (hipoxia generalizada), o una región del cuerpo (hipoxia de tejido), se ve privado del suministro adecuado de oxígeno.

Mucopolisacáridos: Cadenas largas de moléculas de azúcar que se encuentran a lo largo de todo el cuerpo, a menudo en las mucosidades y en el líquido alrededor de las articulaciones.

Nosocomio: Establecimiento sanitario donde se atiende a los enfermos para proporcionar el diagnóstico y tratamiento que necesitan.

Parto vaginal: Parto de un bebé a través del canal de parto (vaginal).

Peptidoglicano: El peptidoglicano o mureína es un copolímero formado por unas secuencias alternantes de N-acetil-glucosamina y el Ácido N-acetilmurámico unidas mediante enlaces β -1,4.

Potencial redox: Se denomina reacción de reducción-oxidación, de óxido-reducción o, simplemente, reacción redox, a toda reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación.

Saco amniótico: Saco lleno de líquido en el útero de la madre en donde se desarrolla el feto.

Útero: Órgano muscular ubicado en la pelvis de la mujer que contiene al feto en desarrollo y lo nutre durante el embarazo.

Xerófilos: Se aplica al organismo que está adaptado para vivir en lugares o ambientes secos.

2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES.

2.4.1. Hipótesis.

H_1 (Hipótesis alternativa): La microbiota oral, no se origina únicamente en el paso del neonato por el canal de parto.

H_0 (Hipótesis nula): El desconocimiento de las bacterias patógenas causantes de enfermedades en el neonato nacido en el Hospital Provincial General Docente de Riobamba, NO permite un adecuado y correcto protocolo en la atención del parto vaginal por parte de las enfermeras, obstetras y ginecólogos/as.

1ra. nota de la autora: Si la hipótesis nula no es rechazada, esto no quiere decir que sea verdadera.

2da. nota de la autora: Es necesario enunciar H_1 y H_0 , para luego aplicar la fórmula de Chi-cuadrado.

2.4.2. Variables.

2.4.2.1. *Variable dependiente.*

- Microbiota oral.

2.4.2.2. *Variables independientes.*

- Vaginosis bacteriana,
- Ruptura de membrana y,
- Sepsis neonatal.

2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	CATEGORÍAS	INDICADORES	TÉCNICAS
Dependiente Microbiota oral	Conjunto de micro-organismos	Cocos Gram positivos Cocos Gram negativos Bacilos Gram positivos Bacilos Gram negativos Otros	Presencia de micro-organismos	Análisis de laboratorio
Independiente Vaginosis Bacteriana	Causa más común de infección vaginal	Enfermedad bacteriana	Secreción anormal	Observación Control
Ruptura Prematura de membrana	Trastorno que se produce en el embarazo cuando el saco amniótico se rompe más de una hora antes del inicio del trabajo de parto	Pre-término Término	Infecciones	Análisis de laboratorio (Hemograma, Procalcitonina o, Interleucina 6)
Sepsis neonatal	Infección tóxica sistémica que se ocasiona por la proliferación de bacterias, virus, y hongos.	Aparición temprana y tardía	Infección intraamniótica	Diagnóstico clínico

Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO.

3.1. MÉTODOS.

Los métodos que se utilizaron en esta investigación fueron:

- ❖ **DOCUMENTAL:** Utilizando como medio de consulta libros, revistas científicas y artículos publicados por referentes en la cátedra.
- ❖ **CAMPO:** El método de campo es, una investigación directa en neonatos recién nacidos.
- ❖ **OBSERVACIONAL:** En éste, existe una participación del investigador, quien realiza una observación clínica desde el inicio hasta el fin de la investigación.
- ❖ **RELACIONAL:** Con este diseño, el investigador intenta visualizar si existe relación entre el tipo de parto y la microbiota bacteriana de los neonatos.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

El trabajo de investigación fue un estudio prospectivo, de corte transversal y experimental.

- PROSPECTIVO: Porque los datos fueron registrados conforme la ocurrencia de los hechos.
- TRANSVERSAL: Porque los resultados fueron observados en un solo tiempo determinado.
- EXPERIMENTAL: Porque los grupos de estudios se sometieron a la acción de una variable para determinar su efecto.

3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

El diseño que se utilizó en esta investigación es de campo, observacional y relacional.

3.3.1. Tipo de estudio.

- ❖ DE CAMPO: Es una investigación directa en neonatos recién nacidos.
- ❖ OBSERVACIONAL: Porque es un estudio de carácter estadístico-demográfico.
- ❖ RELACIONAL: Porque se relacionan tres variables, para explicar el evento de la investigación.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.4.1. Población.

Para el cálculo de tamaño de muestra (universo), se aplicó la fórmula Chi-cuadrado (X^2 o J^2), pero hay que considerar las limitaciones de la investigación especificadas en los criterios de inclusión y exclusión.

3.4.2. Muestra.

$$n = \frac{Z^2 N p q}{e^2 (N + 1) + Z^2 p q} = 15$$

3.4.2.1. Criterios de inclusión.

- Bebés nacidos a término,
- Partos sin complicaciones y,
- Población sin riesgos prenatales identificados.

3.4.2.2. Criterios de exclusión.

- Madres que tomaron antibióticos durante el embarazo,
- Madres inmuno deprimidas.
- Tiempo permitido para permanecer en la sala de parto y,
- Costos elevados para el cultivo de las muestras en el laboratorio.

La muestra queda representada por 15 mujeres en condiciones de parto, luego de aplicar los criterios de inclusión, exclusión y por sugerencia de las autoridades de la Facultad de Ciencias de la Salud.

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

Una vez que se ingresa al Centro Obstétrico, debemos seguir las normas de bioseguridad que son las siguientes:

- usar vestimenta quirúrgica estéril, gorra, mascarilla,
- botas desechables y guantes.

3.5.1. Método para la recolección de muestras del parto vaginal.

- Identificar el tubo con el nombre del paciente, fecha, tipo de muestra, hora que se recoge la muestra, edad, el lugar de donde procede la muestra, numero de muestra.
- Lavado de manos quirúrgico. Se usa agua y jabón antimicrobiano líquido
 - La llave se accionara automáticamente.
 - Mojamos las manos con agua, aplicamos el jabón líquido, frotar enérgicamente por un periodo de 3 minutos en el primer lavado y de 2 minutos en los lavados siguientes.
 - Cubrimos todas las superficies de manos y dedos, llegando hasta encima del pliegue de los codos.
 - Enjuagar con abundante agua.
 - Durante el procedimiento se recomienda mantener los brazos hacia arriba favoreciendo el escurrimiento hacia los codos.
 - Se utilizó compresa estéril para el secado de manos, dedos y brazos.
- Colocación de guantes.
- En el momento de parto nace el neonato y enseguida procedemos a tomar la muestra de toda la cavidad oral como lengua, paladar, carrillos piso de boca.
 - Abrimos el envoltorio que contiene el tubo de ensayo con su respectivo medio de transporte Stuart y el hisopo estéril.
 - Tomamos la muestra mediante un hisopado.
 - Destapamos el tubo de ensayo.
 - Introducimos el escobillón en el tubo.
- Enviamos la muestra enseguida al laboratorio.

- Los especímenes son sembrados y analizados en el laboratorio dentro de las 24 horas siguientes a la toma de la muestra.

Control: Se realizaron tres muestras de cada neonato durante las primeras 24 horas de vida.

- ✓ La 1ra. al momento del nacimiento dentro del quirófano,
- ✓ La 2da. a las 12 horas de nacido en la sala de maternidad y,
- ✓ La 3ra. a las 24 horas también dentro del nosocomio.

3.6. TÉCNICAS PARA EL ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La unidad de análisis del presente estudio fue cada neonato mediante las tres muestras de hisopado de la cavidad bucal realizados en las primeras veinticuatro horas de vida.

El análisis final, se realizó en el laboratorio por medio de la técnica de cultivo y el conteo e identificación de UFC de diferentes microorganismos, luego de setenta y dos horas de incubación.

Los resultados obtenidos se grafican en cuadros estadísticos, mediante técnicas estadísticas.

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

4.1. DISCUSIÓN.

Como dice Encinas (1993), los datos en sí mismos tienen limitada importancia, es necesario "hacerlos hablar", en ello consiste, en esencia, el análisis e interpretación de los datos.

El propósito del análisis es resumir las observaciones llevadas a cabo de forma tal que proporcionen respuesta a los interrogantes de la investigación.

La interpretación, más que una operación distinta, es un aspecto especial del análisis su objetivo es buscar un significado más amplio a las respuestas mediante su enlace con otros conocimientos disponibles. (Selltiz, 1970) que permitan la definición y clarificación de los conceptos y las relaciones entre éstos y los hechos de la investigación.

De acuerdo a estas consideraciones, los datos que se utilizan en el análisis pueden ser:

- Datos cuantificados.

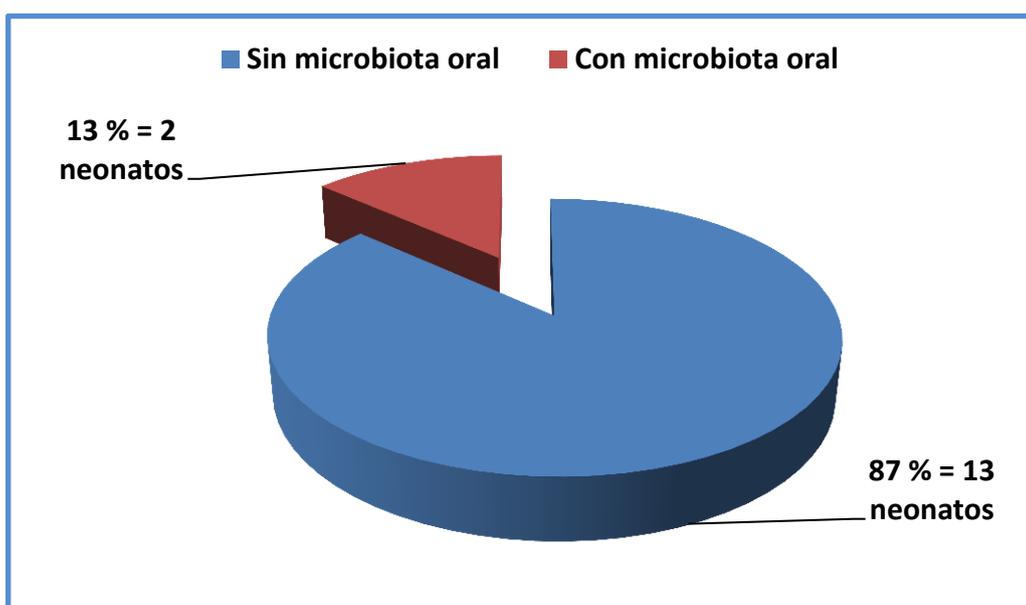
A continuación se grafican los resultados de las tres muestras obtenidas durante las primeras veinticuatro horas de vida del recién nacido y enviadas al laboratorio para su posterior análisis.

Tabla N° 3: Frecuencia de microbiota oral en el recién nacido.

Neonatos	Frecuencia	Porcentaje
Sin microbiota oral	13	87 %
Con microbiota oral	2	13 %
Total	15	100 %

Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Gráfico N° 2: Resultados de la 1ra. muestra.



Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Análisis e interpretación de la 1ra. muestra: Según los datos obtenidos de la muestra inicial al momento del nacimiento de los neonatos mediante el cultivo en el laboratorio por un periodo de tiempo de setenta y dos horas, se evidencia que el parto vaginal, no es estéril y traslada al neonato su microbiota oral inicial o temporaria.

El 13 % (2 neonatos) de los recién nacidos, presentaron:

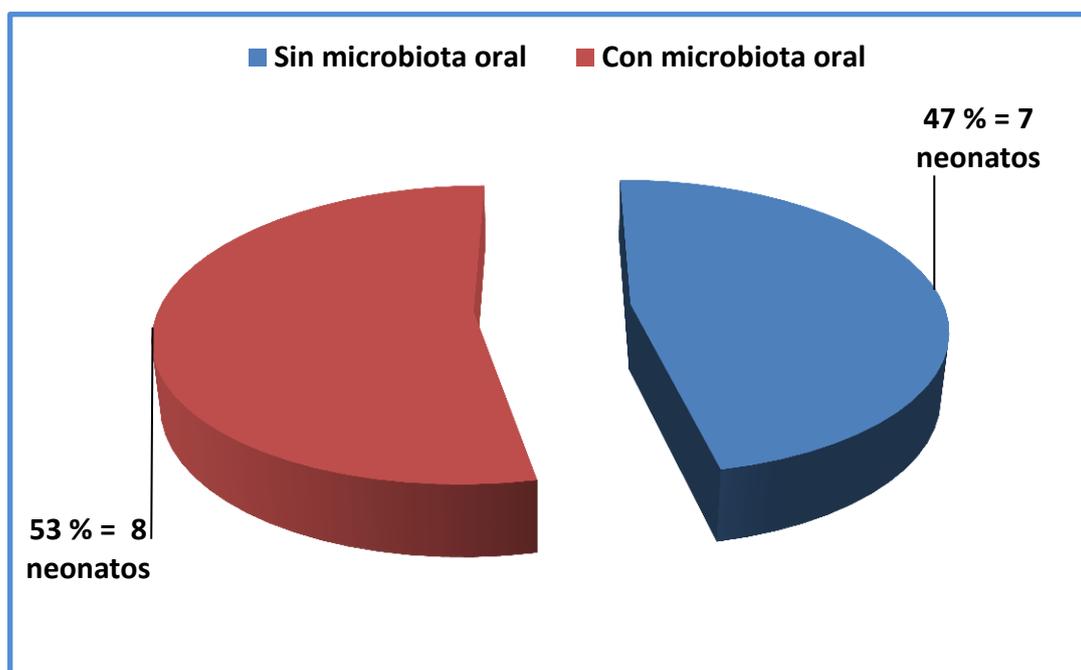
- ✓ *Proteus vulgaris*, bacteria Gram negativa que habita el tracto intestinal y,
- ✓ *Escherichia coli*, por malos hábitos sanitarios que predisponen la infección.

Tabla N° 4: Frecuencia de microbiota oral a las 12 horas.

Neonatos	Frecuencia	Porcentaje
Sin microbiota oral	7	47 %
Con microbiota oral	8	53 %
Total	15	100 %

Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Gráfico N° 3: Resultados de la 2da. muestra.



Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Análisis e interpretación de la 2da. muestra: En la segunda muestra, los resultados obtenidos demostraron microbiota oral en el 53 % de los recién nacidos representado por 8 neonatos, componiéndose la misma por:

- ✓ *Escherichia coli*, por malos hábitos sanitarios que predisponen la infección,
- ✓ *Lactobacillus*, producto de la alimentación materna,
- ✓ *Proteus vulgaris*, bacteria Gram negativa que habita el tracto intestinal,
- ✓ *Staphylococcus aureus*, la cual habita en zonas húmedas del cuerpo y,
- ✓ *Streptococcus viridans*, proveniente de la leche materna.

Tabla Nº 5: Frecuencia de microbiota oral a las 24 horas.

Neonatos	Frecuencia	Porcentaje
Sin microbiota oral	0	0 %
Con microbiota oral	15	100 %
Total	15	100 %

Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Gráfico Nº 4: Resultados de la 3ra. muestra.



Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Análisis e interpretación de la 3ra. muestra: Luego de transcurridas las primeras veinticuatro horas de vida, el recién nacido ya se encuentra expuesto a condiciones medioambientales, el contacto con familiares y seres queridos e ingiere su primer alimento que es la leche materna. Los datos del laboratorio, indican que el 100 % de los recién nacidos representados por 15 neonatos, ya presentaron microbiota oral, la cual fue:

- ✓ *Cándida Albicans*, que también surge producto del contacto boca-boca con los familiares y/o seres queridos,
- ✓ *Escherichia coli*, por malos hábitos sanitarios que predisponen la infección.
- ✓ *Gardnerella vaginalis*, habitante normal en la mujer que en exceso forma la vaginosis bacteriana,
- ✓ *Lactobacillus*, producto de la alimentación materna,
- ✓ *Proteus vulgaris*, bacteria Gram negativa que habita el tracto intestinal,
- ✓ *Staphylococcus aureus*, la cual habita en zonas húmedas del cuerpo humano,
- ✓ *Streptococcus mutans*, seguramente del contacto boca-boca con alguno de los seres queridos o familiares y,
- ✓ *Streptococcus viridans*, proveniente de la leche materna.

Tabla Nº 6: Microbiota oral total en los neonatos.

Microbiota oral	Frecuencia	Porcentaje
Recién nacidos	2	13 %
12 horas	8	53 %
24 horas	15	100 %

Fuente: Hospital Provincial General Docente de Riobamba.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Análisis e interpretación final de los resultados: Del total de la muestra objeto del presente estudio, se comprobó que el 13 % de los recién nacidos presenta microbiota oral al momento de nacer, producto del parto vaginal y de su paso por el canal por el que desciende el feto durante el parto. Además, ninguna de las madres, manifestó posibles patologías (Sepsis neonatal, Ruptura prematura de membrana o, Vaginosis bacteriana) que indicarían una posible microbiota oral en los recién nacidos.

Luego de pasadas las primeras doce horas de vida, el 53 % de los recién nacidos (8 neonatos), ya manifiestan microbiota oral temporaria, producto de la alimentación materna, del contacto con otras personas y del medio ambiente en el que se encuentran.

En el último análisis obtenido a las veinticuatro horas de nacidos los niños, se demostró que el 100 % de los mismos (15 neonatos), ya manifiestan microbiota oral, también fruto de la alimentación recibida por parte de la madre, el medio ambiente donde transcurren el primer día de vida y el contacto cercano con sus familiares.

Dentro de un análisis final, se demuestra que las bacterias o microorganismos, que habitan en la piel de los seres humanos exclusivamente, o dentro de la boca de los adultos, son también un vector o medio de contaminación para el recién nacido, al estar en contacto piel con piel o boca-boca, particularmente con la madre y/o con sus seres queridos.

Se evidencia una cultura de contacto con el neonato de orígenes afectivo, que puede tener consecuencias muy severas en el recién nacido, pues no existe una correcta higiene en las personas que tienen contacto con el mismo en sus primeras veinticuatro horas de vida.

Las bacterias que comienzan a colonizar el tracto digestivo del lactante son las productoras de ácido láctico provenientes de la leche materna.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. CONCLUSIONES.

- 1) Al realizar la toma de muestra del recién nacido dentro de la sala de parto, se pudo comprobar que el parto vaginal, no es estéril, ya que el 13 % de los recién nacidos presentaron microbiota oral al momento de su nacimiento.
- 2) Al comparar las tres muestras obtenidas luego del cultivo en el laboratorio, se identificó que el 53 % de los neonatos, ya presentaba microbiota oral a las 12 horas de vida y el 100 % de los neonatos presentó microbiota oral a las 24 horas de vida respectivamente.
- 3) Al identificar en el laboratorio los microorganismos que el neonato posee en su primer día de vida, se comprobó que el contacto con la madre (boca-boca o piel-piel), la alimentación con leche materna, el contacto con otras personas (boca-boca o piel-piel) el personal del nosocomio y el medio ambiente, son el 100 % de los factores que inician la aparición de la microbiota oral en el recién nacido.
- 4) Se identificaron 8 microorganismos en el 100 % de los neonatos, para lo cual se entregará la presente investigación a las autoridades del Hospital General Provincial Docente de Riobamba, para ser tomado como antecedente de futuras investigaciones.

5.2. RECOMENDACIONES.

- 1) Es necesario conocer los riesgos de infecciones por patologías pre-existentes en la madre y peligrosas para la salud del recién nacido, ya que éstas se manifiestan en la microbiota oral del recién nacido.
- 2) Es preciso hacer la toma de 3 muestras al neonato, al momento de nacer, a las 12 horas y a las 24 horas de su primer día de vida, ya que éste se encuentra muy expuesto a varias patologías fruto del contacto con otras personas, la alimentación y el medio ambiente (éste último, es muy difícil de evaluar).
- 3) Se recomienda insistir y en advertir a todos los familiares y personal médico que asiste en los primeros días de vida del neonato, a conservar y mantener estrictas normas de higiene personal de la madre (ducha pre-parto con productos antimicrobianos) y/o hábitos que pudieran exponer al recién nacido a patologías muy complejas, hasta que la sucesión microbiana general (Alogénica – autogénica) del niño, esté formada; lo cual sucede en los primeros días de vida.
- 4) Se sugiere la vigilancia intrahospitalaria, con métodos de vigilancia mixtos [(observación directa de la sitio quirúrgico o sala de parto (incluida la sala de parto cultural y anexos), revisión diaria de los cultivos del laboratorio de microbiología)], para registrar los signos y síntomas de los neonatos y lograr así, una permanente mejora en la atención médica de la población.

CAPÍTULO VI

6. MARCO ADMINISTRATIVO.

6.1. RECURSOS HUMANOS.

Investigadora: Rosa Cemira Bonifaz Damián.

Tutora: Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde.

Población: Mujeres en labor de parto y neonatos habitantes de la ciudad de Riobamba, Cantón del mismo nombre, provincia de Chimborazo.

6.2. RECURSOS MATERIALES.

- Placas Petri, Agares,
- Vaso de precipitado, Asa de Drigalsky,
- Pipeta, Embudo, Tubos de ensayo,
- Matraz, Balón de base plana,
- Probetas, Fiolas,
- Mandiles, guantes descartables,
- Libros, Revistas, Material de oficina,
- Copias, Impresiones, Anillados,
- Insumos y Transporte.

6.3. RECURSOS TECNOLÓGICOS.

- Microscopio,
- Estufa de cultivo o incubadora,
- Horno esterilizador,
- Cámara fotográfica,
- Computadora,
- Impresora,
- Scanner,
- Flash Memory e,
- Internet.

6.4. RECURSOS FINANCIEROS.

Para la realización de ésta investigación, se necesitaron USD 900 (Dólares Estadounidenses Novecientos). La investigación fue financiada en su totalidad por la investigadora.

6.5. NÓMINA DE PACIENTES ANALIZADOS.

Tabla N° 7: Nómina de pacientes analizados.

FECHA	PACIENTE	EDAD
15/10/13	01	21
15/10/13	02	21
16/10/13	03	17

16/10/13	04	26
15/10/13	05	16
21/10/13	06	24
21/10/13	07	30
22/10/13	08	34
22/10/13	09	32
22/10/13	10	21
23/10/13	11	19
23/10/13	12	21
24/10/13	13	22
25/10/13	14	19
29/10/13	15	21

Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Nota N° 1: En la Tabla N° 7, se han preservado los datos de filiación de la población objeto del presente estudio, según “LEY DE DERECHOS Y AMPARO AL PACIENTE” (Ley N° 77, Art. 4, Derecho a la confidencialidad: Todo paciente tiene derecho a que la consulta, examen, diagnóstico, discusión, tratamiento y cualquier tipo de información relacionada con el procedimiento médico a aplicársele, tenga el carácter de confidencial).

7. BIBLIOGRAFÍA.

- 1) Adlerberth I., Lindberg E., Aberg N., Hesselmar B., Saalman R., Strannegård I.L., Wold A.E. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle. *Pediatric Res* 2006; 59: 96-101.
- 2) Ahrné S., Lönnemark E., Wold A.E., Aberg N., Hesselmar B., Saalman R., Strannegård I.L., Molin G., Adlerberth I. Lactobacilli in the intestinal microbiota of Swedish infants. *Microb Infect* 2005; 7: 1256-1262.
- 3) Beasley S.S., Saris P.E.J. Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from human milk. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 5051-5053.
- 4) Becker M.R., Paster B.J., Leys E.J., Moeschberger M.L., Kenyon S.G., Galvin J.L., Boches S.K., Dewhirst F.E., Griffen A.L. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1001-1009.
- 5) Begier E.M., Barrett N.L., Mshar P.A., Johnson D.G., Hadler J.L. Connecticut Bioterrorism Field Epidemiology Response Team. Gram-positive rod surveillance for early anthrax detection. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1483-1486.
- 6) Cukrowska B., Lodínová-Žádníková R., Enders C., Sonnenborn U., Schulze J., Tlaskalova-Hogenova H. Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with non-pathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. *Scand. J. Immunol.* 2002; 55: 204-209.

- 7) D. Male; J. Brostoff; D. Broth; I. Roitt. Inmunología. España. Séptima edición. Editor Elsevier Mosby, 2007. 535 p.
- 8) Favier C.F., Vaughan E.E., de Vos W.M., Akkermans A.D.L. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 219-226.
- 9) Fernández L., Marín M.L., Langa S., Martín R., Reviriego C., Fernández A., Olivares M., Xaus J., Rodríguez J.M. A novel genetic label for detection of specific probiotic lactic acid bacteria. *Food Sci Tech Int* 2004; 10: 101-108.
- 10) Flores-Paz R., Rivera-Sánchez R., Ruix-Pérez N.J., Arriaga-Alba M. Utilidad del sistema Affirm VPIII y de la prueba L-Pap para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, July 2008; 26:338-342. México.
- 11) Fredricks David N. Molecular methods to describe the spectrum and dynamics of the vaginal microbiota. *Anaerobe*, aug 2011; 17:191-195 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.01.001.
- 12) Grozdanov L., Raasch C., Schulze J., Sonnenborn U., Gottschalk G., Hacker J., Dobrindt U. Analysis of the genome structure of the non-pathogenic probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J. Bacteriol.* 2004; 186: 5432-5441.
- 13) Guevara A., Santiago V., Domínguez A. Vaginosis citolítica: una entidad clínica poco conocida. *Rev Obstet Ginecol Venez.* Mar 2011; 71:45-48.
- 14) Harmsen H.J.M., Wildeboer-Veloo A.C.M., Raangs G.C., Wagendorp A.A., Klijn N., Bindels J.G., Welling G.W. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-67.
- 15) Heikkilä M.P., Saris P.E.J. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 471-478.

- 16) José A. Clavero Núñez. Tratado de ginecología: fisiología, obstetricia, perinatología, ginecología, reproducción (14va. edición). Ediciones Díaz de Santos. Pag. 461. 2008.
- 17) Kalliomäki M., Salminen S., Poussa T., Arvilommi H., Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-1871.
- 18) Kirjavainen P.V., Apostolou E., Arvola T., Salminen S.J., Gibson G.R., Isolauri E. Characterizing the composition of intestinal microbiota as a prospective treatment target in infant allergic disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 32: 1-7.
- 19) Langa S. Interacciones entre bacterias lácticas, células del epitelio intestinal y células del sistema inmunitario. Desarrollo de modelos in vitro. Tesis doctoral. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2006.
- 20) Lindemann P.C., Foshaugen I., Lindemann R. Characteristics of breast milk and serology of women donating breast milk to a milk bank. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2004; 89: F440-F441.
- 21) Martín R., Heilig H.G., Zoetendal E.G., Jiménez E., Fernández L., Smidt H., Rodríguez J.M. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women. *Res Microbiol* 2007; 158: 31-37.
- 22) Martín R., Jiménez E., Olivares M., Marín M.L., Fernández L., Xaus J., Rodríguez J.M. *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int J Food Microbiol* 2006; 112: 35-43.
- 23) Martín R., Langa S., Reviriego C., Jiménez E., Marín M.L., Xaus J., Fernández L., Rodríguez J.M. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Ped* 2003; 143: 754-758.
- 24) Martín R., Nora Soberón N., Fernando Vázquez F., Suárez J.E. La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; 26:160-7.

- 25) Martín R., Olivares M., Marin M.L., Fernández L., Xaus J., Rodríguez J.M. Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *J Hum Lact* 2005; 21: 8-17.
- 26) Martínez M.A., Ovalle A., Gaete A.M., Lillo E., De la Fuente F., Araneda F., et al. Comparación de los criterios de Nugent y Spiegel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana y análisis de los resultados discordantes por el método de Ison y Hay. *Rev méd Chile*. Ene 2011; 139: 66-71.
- 27) Matsumiya Y., Kato N., Watanabe K., Kato H. Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *J. Infect Chemother* 2002; 8: 43-49.
- 28) Menard, J.P. Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies. *Int J Womens Health*. 2011; 3: 295-305.
- 29) Ng D.K., Lee S.Y.R., Leung L.C.K., Wong S.F., Ho J.C.S. Bacteriological screening of expressed breast milk revealed a high rate of bacterial contamination in Chinese women. *J Hospital Infect* 2004; 58: 146-150.
- 30) Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A, Pfaller. *Microbiología Médica*, 6ta Edición 2009 Elsevier España, S.L
- 31) Patrick R. Murray. *Microbiología Médica*. España, 5ta edición. Editor Elsevier Mosby 2006. 963 p.
- 32) Perez P.F., Dore J., Leclerc M., Lévesque F., Benyacoub J., Serrant P., Segura-Roggero I., Schiffrin E.J., Donet-Hughes A. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007; 119: 724-732.
- 33) Petrova M.I., van den Broek M., Balzarini J., Vanderleyden J., Lebeer S. Vaginal microbiota and its role in HIV transmission and infection. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013; 37: 762-792.

- 34) Qutaishat S.S., Stemper M.E., Spencer S.K., Borchardt M.A., Opitz J.C., Monson T.A., Anderson J.L., Ellingson L.E. Transmission of *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* DT104 to infants through mother's breast milk. *Pediatrics* 2003; 111: 1442-1446.
- 35) Rebecca M. Brotman. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. *J Clin Invest.* 2011; 121:4610-4617.
- 36) Rescigno M., Urbano M., Valsazina B., Francoloni M., Rotta G., Bonasio R., Granucci F., Kraehenbuhl J.P., Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunol* 2001; 2: 361-367.
- 37) Sanz Y., Collado M.C., Dalmau J. Contribución de la microbiota intestinal y del género *Bifidobacterium* a los mecanismos de defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales. *Acta Pediatr Esp* 2006; 64: 74-8.
- 38) Schultz M., Göttl C., Young R.J., Iwen P., Vanderhoof J.A. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 293-297.
- 39) Uehara Y., Kikuchi K., Nakamura T., Nakama H., Agematsu K., Kawakami Y., Maruchi N., Totsuka K. H₂O₂ produced by viridans group streptococci may contribute to inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization of oral cavities in newborns. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1408-1413.
- 40) Venegas G., Boggiano G., Castro E. Prevalencia de vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales chilenas. *Rev. Panamericana de Salud Pública.* Pag. 46-50. 2011.

8. ANEXOS.

8.1. FOTOGRAFÍAS DE LA INVESTIGACIÓN.

Fotografía N° 4: Investigadora frente al nosocomio.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 5: Normas de seguridad en el quirófano.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 6: Hisopado bucal al momento del nacimiento.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 7: Hisopado bucal al momento del nacimiento.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 8: Hisopado bucal al momento del nacimiento.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 9: Toma de muestra a las 12 horas de vida.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 10: Toma de muestra a las 12 horas de vida.



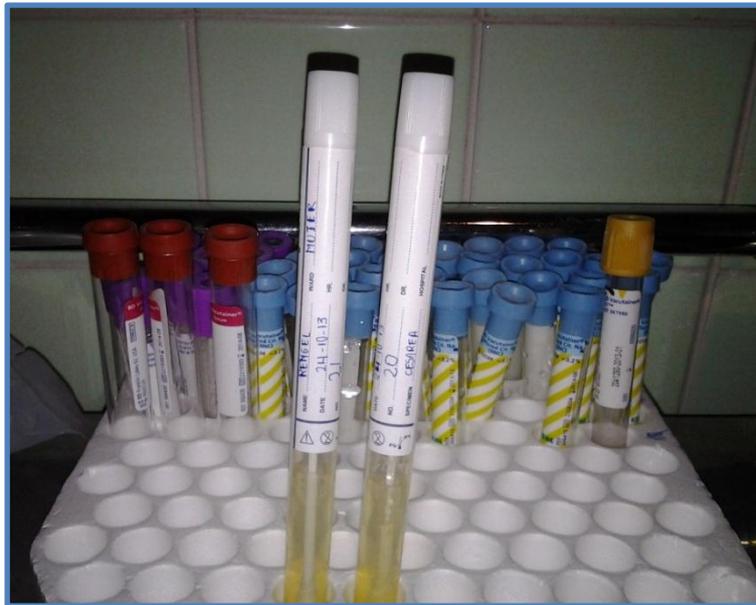
Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 11: Toma de muestra a las 24 horas de vida.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 12: Identificación de los tubos de ensayo con sus respectivas muestras.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 13: Identificación de los tubos de ensayo con sus respectivas muestras.



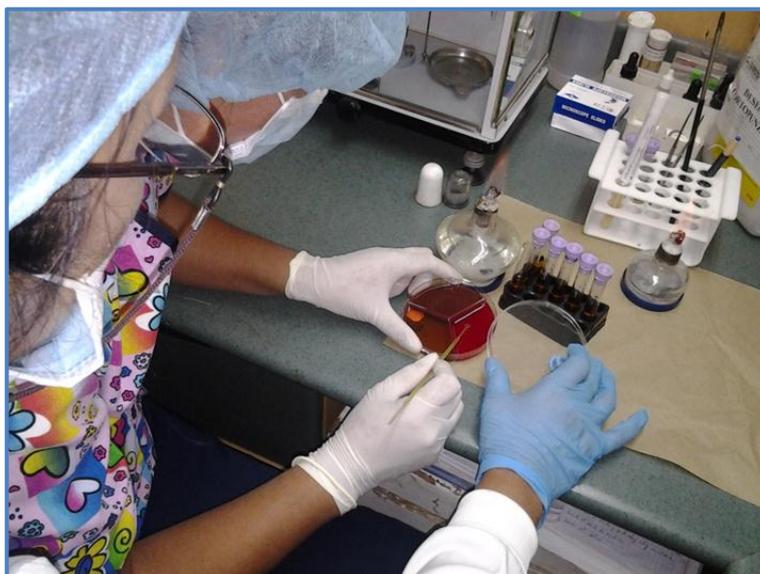
Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 14: Siembra de los diferentes microorganismos en los diferentes agares.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 15: Siembra de los diferentes microorganismos en los diferentes agares.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 16: Charlas educativas sobre higiene bucal a las madres de los neonatos.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

Fotografía N° 17: Charlas educativas sobre higiene bucal a las madres de los neonatos.



Fuente: Investigación propia.
Elaborado por: Rosa C. Bonifaz D.

8.2. CERTIFICADO ACEPTACIÓN HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL
DOCENTE RIOBAMBA.



MEMORANDO N° 086-UDI-MB-2013

Riobamba, 24 de septiembre del 2013

DE: Dr. Marcelo Barba
COORDINADOR UNIDAD DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

PARA: Dra. Jacqueline Guevara.
JEFE SERVICIO DE PEDIATRIA

ASUNTO: El que indica

Por medio de la presente y una vez que se ha coordinado con su persona sobre el pedido de autorización que solicitan las Srtas. Rosa Bonifaz y Paulina Andrade para realizar el trabajo de investigación "Estudio Microbiológico de la Flora Oral en Neonatos mediante Parto Abdominal y Vaginal". Dicha petición es aceptada, manifestando que a la finalización del trabajo investigativo se entregue una copia a Docencia y se socialice los resultados obtenidos en el servicio de Pediatría.

Particular que pongo en su conocimiento para los fines pertinentes.

Atentamente,

Dr. Marcelo Barba
COORDINADOR UNIDAD DE DOCENCIA
E INVESTIGACIÓN HPGDR.

cc. Archivo *Dr. Marcelo Barba R.*
CIRUJANO GENERAL
MSP L.D. 20 Feb. 1 No. 2



8.3. RESULTADOS DEL EXAMEN DE LABORATORIO.

	 10298033 Autorizado por: Dra. Diana Pazmiño Narváez MD - Patóloga Clínica Directora de Laboratorios	Página 1 de 1
Nombre : RN SIMBAÑA Documento : 10298033-13 Medico : NO APLICA Entidad : PUBLICO RIOBAMBA		Codigo : 10298033 Edad/Sexo : 14 D / F Fecha Ingreso : 2013-10-29 14:07:38 Fecha Impresión : 2013-11-11 11:40:41.
ANALISIS	RESULTADOS	INTERVALOS BIOLÓGICOS
MICROBIOLOGIA CULTIVO DE MUESTRA DE RESULTADO	HISOPADO DE CAVIDAD BUCAL Muestra sembrada en los medios adecuados no presenta desarrollo de germen alguno después de 72 horas de incubación.	
Validado por: DR. MARCELO PROCEL		 PAZMIÑO NARVÁEZ Laboratorio Clínico de Especialidades
<p>MATRIZ: Av. Gran Colombia N14-65 y Hnos. Pazmiño esq. frente a la Maternidad Isidro Ayora • Telefax: (02) 2 569-911 / (02) 2 541-891 / (02) 2 500-775 - Quito - ATENCIÓN LAS 24 HORAS LOS 365 DÍAS DEL AÑO SUCURSAL 1: Edificio "FORTUNE PLAZA" Alemania N30-10 y Eloy Alfaro esq. planta baja Ofi. 103 • Teléfono: (02) 3 825-222 - Quito SUCURSAL 2: Edificio "SOLMEDIC" torre Médica, Alemania y Eloy Alfaro planta baja - Quito SUCURSAL 3: Edificio "LIVENZA MEDICAL CENTER" Vozandes N39-34 y Juan Diguja, planta baja ofic. 106 • Telf.: (02) 3 319-089 - Quito CUMBAYÁ: Clínica La Primavera • Teléfono: (02) 2 890-212 ext. 115 - Quito RIOBAMBA: Pichincha 21-48 entre Guayaquil y 10 de Agosto • Telefax: (03) 2 964-120 • Telf.: (03) 2 965-491 WEB: www.labpaznar.com E-MAIL: labpaznar@andinanet.net / clientes@labpaznar.com</p>		

Fuente: Laboratorio clínico Pazmiño Narváez.
Elaborado por: Dra. Diana Pazmiño Narváez.



Nombre : RN TIWIRAM
Documento : 10178037-13
Medico : NO APLICA
Entidad : PUBLICO RIOBAMBA

Codigo : 10178037
Edad/Sexo : 26 D / F
Fecha Ingreso : 2013-10-17 13:05:07
Fecha Impresión : 2013-11-11 11:11:03.

ANALISIS

RESULTADOS

INTERVALOS BIOLÓGICOS

MICROBIOLOGÍA

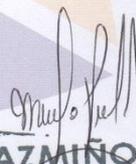
CULTIVO DE MUESTRA
DE

GERMEN AISLADO

HISOPADO DE CAVIDAD BUCAL

Proteus vulgaris 10.000 UFC/ml

Validado por: LCDA. GLADYS ESPINOSA



**PAZMIÑO
NARVÁEZ**
Laboratorio Clínico de Especialidades



10228042

Autorizado por:

Dra. Diana Pazmiño Narváez

MD - Patóloga Clínica
Directora de Laboratorios

Página 1 de 1

Nombre : RN GUAÑO
Documento : 10228042-13
Medico : NO APLICA
Entidad : PUBLICO RIOBAMBA

Codigo : 10228042
Edad/Sexo : 21 D / F
Fecha Ingreso : 2013-10-22 13:35:27
Fecha Impresión : 2013-11-11 11:20:10.

ANALISIS

RESULTADOS

INTERVALOS BIOLÓGICOS

MICROBIOLOGIA

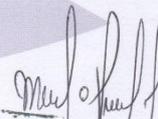
CULTIVO DE MUESTRA
DE

GERMEN AISLADO

HISOPADO DE CAVIDAD BUCAL

Escherichia coli 10.000 UFC/ml

Validado por: LCDA. GLADYS ESPINOSA



**PAZMIÑO
NARVÁEZ**
Laboratorio Clínico de Especialidades

MATRIZ: Av. Gran Colombia N14-65 y Hnos. Pazmiño esq. frente a la Maternidad Isidro Ayora • Telefax: (02) 2 569-911 / (02) 2 541-891 / (02) 2 500-775 - Quito - **ATENCIÓN LAS 24 HORAS LOS 365 DÍAS DEL AÑO**

SUCURSAL 1: Edificio "FORTUNE PLAZA" Alemania N30-10 y Eloy Alfaro esq. planta baja Ofi. 103 • Teléfono: (02) 3 825-222 - Quito

SUCURSAL 2: Edificio "SOLMEDIC" torre Médica, Alemania y Eloy Alfaro planta baja - Quito

SUCURSAL 3: Edificio "LIVENZA MEDICAL CENTER" Vozandes N39-34 y Juan Diguja, planta baja ofic. 106 • Telf.: (02) 3 319-089 - Quito

CUMBAYÁ: Clínica La Primavera • Teléfono: (02) 2 890-212 ext. 115 - Quito

RIOBAMBA: Pichincha 21-48 entre Guayaquil y 10 de Agosto • Telefax: (03) 2 964-120 • Telf.: (03) 2 965-491

WEB: www.labpaznar.com **E-MAIL:** labpaznar@andinet.net / clientes@labpaznar.com

Fuente: Laboratorio clínico Pazmiño Narváez.
Elaborado por: Dra. Diana Pazmiño Narváez.

8.4. MICROBIOTA SEGÚN LA SUPERFICIE CORPORAL.

Bacteria	Piel	Boca	Vagina
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	++	++	++
<i>Staphylococcus aureus</i> *	+	+	+
<i>Streptococcus mitis</i>		++	+
<i>Streptococcus salivarius</i>		++	
<i>Streptococcus mutans</i> *		++	
<i>Enterococcus faecalis</i> *		+	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i> *		+	+/-
<i>Streptococcus pyogenes</i> *	+/-	+	+/-
<i>Neisseria sp.</i>		+	+
<i>Neisseria meningitidis</i> *		+	+
<i>Enterobacteriaceae</i> * (<i>E. coli</i> principalmente)		+	+
<i>Proteus sp.</i>		+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *		+/-	
<i>Haemophilus influenzae</i> *		+	
<i>Bacteroides sp.</i> *			+/-
<i>Bifidobacterium bifidum</i>			
<i>Lactobacillus sp.</i>		++	++
<i>Clostridium sp.</i> *		+/-	
<i>Clostridium tetani</i>			
<i>Corynebacterineae</i>	++	+	+
<i>Mycobacterium</i>	+		
<i>Actinomycetaceae</i>		+	
<i>Spirochaetes</i>		++	
<i>Mycoplasmatales</i>		+	+

Símbolos: ++ (Muy común), + (Común), +/- (Poco frecuente), * (Potencialmente patógeno).

8.5. CONSTANCIA DE REVISIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

Riobamba, 2 de Diciembre de 2013.

Quien suscribe, Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde, en mi carácter de tutora de la tesina de grado: **“ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA FLORA ORAL EN NEONATOS MEDIANTE PARTO VAGINAL EN EL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE RIOBAMBA EN EL PERIODO DE MAYO-OCTUBRE DEL AÑO 2013”**, certifico y dejo constancia de haber revisado el proyecto de investigación de la alumna Rosa Cemira Bonifaz Damián, con cédula de identidad 060324322-1, estudiante de la Carrera de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), en las fechas más abajo indicadas.

- ✓ Fecha: 12 de septiembre de 2013.
- ✓ Fecha: 14 de Octubre de 2013.
- ✓ Fecha: 19 de Noviembre de 2013.

Se entrega el presente certificado a los efectos de cumplir con los trámites necesarios para la autorización de la tesina indicada ante el ejercicio académico de la defensa.

Dra. Jenny Alexandra Erazo Valverde

Tutora