

**Universidad de Costa Rica**

**Facultad de Microbiología**

# **Evaluación Microbiológica del ambiente en la Sección de Curaciones de una Clínica del Seguro Social.**

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado de Licenciatura en  
Microbiología y Química Clínica**

**Ana Gabriela Cruz Chavarría  
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio**

**Julio, 2008**



**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
VICERRECTORÍA DE DOCENCIA**

**FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA  
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO**

Acta de presentación de Requisito Final de Graduación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el martes 08 de julio del año 2008 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **ANA GABRIELA CRUZ CHAVARRIA**, carné A21677, quien se acoge al Reglamento de Trabajos Finales de Graduación bajo la modalidad de **PRACTICA DE GRADUACIÓN**, para optar por el grado académico de **LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA** y el título profesional de **DOCTORA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA**.

Están presentes los siguientes miembros del tribunal:

Dra. Elizabeth Abrahams Sandí **PRESIDENTA**  
Dr. María del Rosario Achí Araya  
Dr. Adolfo Quesada Chanto  
Dra. Kenia Barrantes Jiménez  
Dr. Norman Rojas Campos

**ARTICULO 1**

La presidenta informa que el expediente de **ANA GABRIELA CRUZ CHAVARRIA**, contiene todos los documentos de rigor, incluyendo el recibo de pago de los derechos de graduación. Declara que la postulante cumplió con todos los demás requisitos del plan de estudios correspondientes, y por lo tanto, se solicita que proceda a hacer la exposición.

**ARTICULO 2**

La postulante **ANA GABRIELA CRUZ CHAVARRIA**, hace la exposición oral de su trabajo de graduación título "**Evaluación microbiológica del ambiente en la sección de curaciones de una clínica del seguro social**".

### ARTICULO 3

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la Postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.


### ARTICULO 4


El tribunal considera el trabajo final de graduación satisfactorio y le confiere la calificación de: 87

### ARTICULO 5

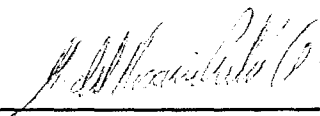
La presidenta del Tribunal comunica a la Postulante el resultado de la deliberación y la declara acreedora al grado de **Licenciada en Microbiología y Química Clínica** y al título profesional de **Doctora en Microbiología y Química Clínica**.

Se le indica la obligación de presentarse al acto público de juramentación al que será oportunamente convocada. Se da lectura al acta que firman los Miembros del Tribunal Examinador y a la Postulante, a las 9:30 horas.

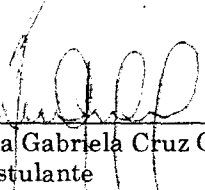
  
\_\_\_\_\_  
Dra. Elizabeth Abrahams Sandí  
Presidenta

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Adolfo Quesada Chanto

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Norman Rojas Campos

  
\_\_\_\_\_  
Dra. María del Rosario Achi Araya

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Kenia Barrantes Jiménez

  
\_\_\_\_\_  
Ana Gabriela Cruz Chavarría  
Postulante

## **Dedicatoria**

A Dios quien es mi cimiento y mi esperanza...

“Todo lo que hagan, háganlo de buena gana, como si estuvieran sirviendo al Señor  
Jesucristo y no a la gente.” Colosenses 3:23

## **Agradecimientos**

A Tita por dedicar estos años a cuidarme y apoyarme... eres un regalo de Dios

A mis Padres por creer mi y darme todo lo he necesitado en mi formación, sus instrucciones siempre me acompañaran...

A mi Familia por darme la vocación

A mis Pastores por su ejemplo.

A Manuel e Iraida Lanza por tratarme como su hija e impulsarme a luchar en cada área de mi vida.

Al Dr. Adolfo Quesada por su apoyo, paciencia y ejemplo

A la Dra. Kenia Barrantes, gracias por ser una excelente maestra, por guiarme en este proceso de aprendizaje y por no limitarte a la microbiología...

A la Dra. Rosa Rodríguez por su colaboración en la identificación bacteriana

A la Dra. Tatiana Moya y Dr. Marco Luis Herrera del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Nacional de Niños

A todo el personal de Laboratorio de Alimentos del INISA, en especial Meli, Jorge y Victor, sin los cuales hubiera sido imposible este trabajo.

A todos los Asistentes de la Facultad de Microbiología por ser las manos y el motor de ese lugar.

A mis amigos por ser el mayor tesoro que se puede encontrar y por hacer que cada momento difícil hoy sea un grato recuerdo de su compañía.

Papito Dios ... a ti , gracias infinitas.

# Indice General

Dedicatoria .....	4
Agradecimientos .....	5
Indice General .....	6
Indice de Cuadros y Figuras .....	7
Resumen .....	8
Antecedentes.....	9
Factores que influyen en el desarrollo de las infecciones nosocomiales.....	11
Prevención de las Infecciones Nosocomiales .....	16
Resistencia microbiana .....	19
Justificación.....	20
Objetivo General.....	21
Objetivos Específicos .....	21
Materiales y Métodos .....	22
Materiales .....	23
Metodología.....	24
Selección de muestras.....	24
Análisis de superficies .....	25
Aislamiento e identificación de patógenos .....	27
Resultados.....	28
Análisis de superficies .....	29
Presencia de Patógenos .....	32
Análisis de las manos de las Enfermeras .....	32
Presencia de Patógenos .....	33
Análisis del Lavamanos .....	33
Presencia de Patógenos .....	34
Análisis de Textiles.....	35
Presencia de Patógenos .....	35
Pruebas de sensibilidad a antibióticos de los patógenos aislados .....	35
Discusión .....	39
Conclusiones.....	47
Recomendaciones .....	50
Referencias .....	53

## Indice de Cuadros y Figuras

<i>Figura 1: Proceso de transmisión común entre las superficies inanimadas y los pacientes susceptibles. (Kramer, et al.2006)</i> .....	16
<i>Figura 2: Clasificación de las áreas dentro de un centro de atención en salud. (Ducel, 2003)</i> .....	18
<i>Figura 3: Representación grafica de la distribución de los diferente muebles y superficies con los que se encuentran en contacto los pacientes de la Sala de Curaciones a estudiar</i> .....	24
<i>Cuadro I: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF) y total aerobio mesofilo (RTAM) de las superficies muestreadas durante la jornada de trabajo</i> .....	29
<i>Cuadro II: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las superficies muestreadas antes de iniciar la jornada de trabajo</i> .....	31
<i>Cuadro III: Aislamientos de patógenos de las superficies muestreadas antes de iniciar la jornada de trabajo</i> .....	32
<i>Cuadro IV: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las Manos de las enfermeras durante la jornada de trabajo</i> .....	33
<i>Cuadro V: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) del Lavamanos al inicio de la jornada de trabajo</i> .....	34
<i>Cuadro VI: Diferentes aislamientos de P.aeruginosa provenientes del Lavamanos de la Sala de Curaciones</i> .....	34
<i>Cuadro VII: Resultados de los recuentos en placa rodac, de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las tres muestras textiles analizadas en esta evaluación</i> .....	35
<i>Cuadro VIII: Perfil de sensibilidad a antibióticos de P.aeruginosa bionúmero 305300350000 aislada de el Lavamanos y de la Mesa quirúrgica de la sala de curaciones</i> .....	36
<i>Cuadro IX: Perfil de sensibilidad a antibióticos de P.aeruginosa bionúmero 3051103500352 aislada del Lavamanos de la sala de curaciones</i> .....	37
<i>Cuadro X: Perfil de sensibilidad a antibióticos de P.aeruginosa bionúmero 3053001400000 aislada del Descansapies de la sala de curaciones</i> .....	38

## Resumen

Las infecciones nosocomiales ocurren en todo el mundo y afectan a los países desarrollados tanto como a los que se encuentran en vías de desarrollo, ellas representan el talón de Aquiles de los sistemas de salud, es fundamental realizar esfuerzos por conocer, tratar y prevenirlas.

Esta evaluación microbiológica del ambiente se realizó en una Sala de Curaciones de una Clínica del Seguro Social con el fin de conocer la flora microbiana a la que están expuestos los pacientes atendidos en este servicio y el riesgo al que se someten.

Se muestrearon todas las áreas que se encuentran en contacto con los pacientes utilizando un método con esponja, en dos momentos diferentes, el primero durante el trabajo y el segundo antes de iniciar la jornada de trabajo, además se evaluó las manos de las enfermeras, el lavatorio y varias muestras textiles

De las 7 superficies evaluadas en el primer muestreo dos de ellas presentaron indicadores de contaminación, para el segundo muestreo todas las superficies presentaron indicadores de contaminación, en esta ocasión se dio una separación ideal de las colonias en el recuento de hongos y levaduras donde se pudieron identificar morfológicamente hongos filamentosos como *Penicilium sp.*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus sp.* *Fusarium sp.* estos provienen principalmente de los sillones de pacientes y de los descansa pies mientras que los hongos levaduriformes como *Rodotorula sp.* *Candida sp.* se aislaron de las mesas quirúrgicas, además se aislaron posibles patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*.

El lavatorio, las manos de las enfermeras y los textiles también presentaron problemas de higiene donde se destacan el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* del Lavamanos.

A través de la identificación bioquímica se logró asociar el lavamanos como principal fuente de contaminación en esta sala, por otra parte se demostró la utilidad del muestreo con esponja en el aislamiento de patógenos y se comprobó la importancia de la infraestructura en este tipo de servicios.



## Antecedentes

La atención de los pacientes alrededor del mundo se da desde los grandes centros hospitalarios privados, hasta los EBAIS más pequeños de las regiones más alejadas de nuestro país. Todos estos centros de atención sin importar los recursos humanos y tecnológicos que tengan, tienen en común que, a pesar de ser lugares destinados a restaurar la salud, pueden convertirse en fuentes de infección para los pacientes.

Al reconocer el talón de Aquiles de los sistemas de salud, es fundamental realizar esfuerzos por conocer, tratar y prevenir las infecciones nosocomiales.

En primer lugar definimos una infección nosocomial de la siguiente manera: “Es una infección que adquiere un paciente después de estar 72 horas en el hospital y que no estaba presente al ingreso ni se encontraba en el período de incubación”(Mora, 2006). Por otro lado, Beneson amplía el concepto: “Una infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud, en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del internado. Comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifiestas después del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento.”(Beneson, 1995).

Los cambios en la prestación de servicios de salud han tratado de reducir los períodos de hospitalización, lo que a su vez ha ampliado la atención ambulatoria. “Se ha señalado que los términos de las infecciones nosocomiales deben comprender las infecciones que ocurren en pacientes tratados en cualquier establecimiento de atención de salud. Las infecciones contraídas por el personal o por visitantes al hospital o a otro establecimiento de esa índole también pueden considerarse infecciones nosocomiales”. (Ducel, 2003).

Las infecciones nosocomiales ocurren en todo el mundo y afectan a los países desarrollados tanto como a los que se encuentran en vías de desarrollo. (Ducel, 2003).

En una encuesta de prevalencia realizada bajo los auspicios de la OMS, 55 hospitales de 14 países representativos de las 4 Regiones de la OMS (Europa, el Mediterráneo Oriental, el Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental) mostró que, en promedio 8,7% de los pacientes hospitalizados presentaba infecciones nosocomiales (Ducel, 2003). Además en un momento dado, más de 1,4 millones de personas alrededor del mundo sufren complicaciones por infecciones contraídas en el hospital (Tikhomirov, 1987). Desde sus inicios los hospitales han sido centros donde se expresaba la caridad cristiana, sin embargo al cuidar a los enfermos en un mismo lugar se expone a los pacientes a una serie de enfermedades y patógenos a los que comúnmente no estaban expuestos. No se tuvo conciencia de esta exposición sino hasta los estudios de John Pringle, en el siglo XVIII, los cuales defienden el contagio mediado por objetos o personas como responsable de las infecciones nosocomiales (Ochoa, 2000).

Gran cantidad de bacterias, virus, hongos y parásitos diferentes pueden causar infecciones nosocomiales. Estos pueden ser causadas por un microorganismo transmitido de otra persona en el hospital (infección cruzada) o por la propia flora del paciente (infección endógena). La infección por algunos microorganismos puede ser transmitida por un objeto inanimado o por sustancias recién contaminadas provenientes de otro foco humano de infección (infección ambiental). (Ducel, 2003).

Las infecciones más frecuentes en el medio hospitalario de la CCSS según la Dra. Nury Mora, miembro del comité de infecciones hospitalarias del Hospital San Juan de Dios, son en primer lugar, las infecciones del trato urinario (40%), seguidas por las infecciones de heridas quirúrgicas (20-25%), en tercer lugar las infecciones del trato respiratorio (15-20%) y por último las bacteremias asociadas a catéter (10%).

En un estudio realizado en el Hospital Nacional de Niños entre noviembre del 2005 y setiembre del 2006, la Dra. Natalia Blanco analizó 56 muertes infantiles donde logró aislar 52 cepas, de las cuales 48% eran bacterias gram positivas, 40% gram negativas y 12% agentes fúngicos. El 30% de los casos estudiados tuvieron una causa de muerte infecciosa, de estos el 50% sufrieron infecciones nosocomiales y el 57% de estas infecciones estuvieron relacionadas con la causa de muerte (Blanco, 2006).

Estos datos coinciden con otros reportes alrededor del mundo acerca de la frecuencia y los principales sitios de infección nosocomial, por ejemplo la encuesta nacional de prevalencia de las infecciones nosocomiales en Francia en 1996, estableció en orden descendente las infecciones del trato urinario, infecciones en vías respiratorias inferiores, infecciones de heridas quirúrgicas y en cuarto lugar infecciones de piel y tejidos blandos (BEH, 1997).

En el Reino Unido, los datos de frecuencia de la infección nosocomial son muy similares manifestando que en primer lugar se encuentran las infecciones del trato urinario seguidas por, heridas quirúrgicas y tracto respiratorio inferior (Ayliffe, *et al* .1999).

### **Factores que influyen en el desarrollo de las infecciones nosocomiales**

El paciente está expuesto a una gran variedad de microorganismos durante la hospitalización. El contacto entre el paciente y un microorganismo, por si solo, no produce necesariamente una enfermedad clínica, puesto que hay otros factores que influyen en la naturaleza y frecuencia de las infecciones nosocomiales.

Las infecciones son producto de una tríada epidemiológica de factores que interactúan para resultar en un proceso patológico. Para poder entender como se desarrollan estas interacciones, es necesario conocer detalladamente cada uno de estos factores de manera que podamos comprender y describir la fisiopatología de cada infección, enfermedad o síndrome. Las características propias de los agentes infecciosos, la vulnerabilidad del hospedero y las condiciones ambientales, son los tres factores mas importante en el desarrollo de las infecciones nosocomiales, por lo que se detallarán a continuación.

#### **1. Los agentes microbianos**

Previo a las buenas prácticas de higiene y el uso de los antibióticos en la práctica médica, las infecciones nosocomiales eran producidas por patógenos primarios como *Vibrio cholerae* o *Mycobacterium tuberculosis*. (Ducel,2003). En la actualidad la mayoría de los agentes causales de las infecciones nosocomiales son cocos gram positivos, entre los

que se destacan *Enterococcus sp.* y *Staphylococcus aureus*, bacilos gram negativos de la familia Enterobacteriaceae y otros bacilos no fermentadores como *Pseudomonas sp.*(Kramer et al ,2006)

En el manual de “Prevención de las infecciones nosocomiales” de la OMS, se clasifica a las bacterias, como agentes principales de estas infecciones de la siguiente manera:

- a) **Bacterias comensales** (encontradas en la flora normal de las personas sanas). Tienen una importante función protectora al prevenir la colonización por microorganismos patógenos. Algunas bacterias comensales pueden causar infección si el hospedero sufre algún grado de compromiso inmunológico. Por ejemplo, los estafilococos cutáneos coagulasa negativos pueden causar infección del catéter intravascular, otro ejemplo es la *Escherichia coli* intestinal la cual es la causa más común de infección urinaria.
- b) **Las bacterias patógenas** tienen mayor virulencia y causan infecciones (esporádicas o endémicas), independientemente del estado del huésped. Por ejemplo:
  - *Los bacilos gram positivos anaerobios* (por ejemplo, *Clostridium*) causan gangrena.
  - *Las bacterias gram positivas: Staphylococcus aureus* (bacterias cutáneas que colonizan la piel y la nariz del personal de los hospitales y de los pacientes) causan una gran variedad de infecciones pulmonares, óseas, cardíacas, sanguíneas y a menudo son resistentes a los antibióticos; los estreptococos beta-hemolíticos también son importantes.
  - *Las bacterias gram negativas*: Las bacterias de la familia Enterobacteriaceae (por ejemplo, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) pueden colonizar varios sitios cuando las defensas del huésped están comprometidas (inserción de un catéter o de una cánula, sonda vesical) y causar infecciones graves (del sitio de una intervención quirúrgica, los pulmones, el peritoneo, bacteriemia). Pueden ser sumamente resistentes.

- *Los microorganismos gram negativos:* Como *Pseudomonas spp.* a menudo se aíslan de agua y zonas húmedas. Pueden colonizar el aparato digestivo de los pacientes hospitalizados.
- *Otras bacterias* representan un riesgo singular en los hospitales. Por ejemplo, *Legionella* puede causar neumonía (esporádica o endémica) por medio de inhalación de aerosoles formados por agua contaminada (en sistemas de aire acondicionado, duchas y aerosoles terapéuticos).

Varias de las bacterias antes mencionadas son flora normal, comúnmente encontrada en la población en general. (Ducel, 2003).

## 2. La vulnerabilidad del paciente

Los factores de importancia para los pacientes que influyen están centrados en la posibilidad de contraer una infección, Son inherentes a él, difíciles de tratar o cambiar, entre los que destacan la edad (60% de los casos se presentan en pacientes con edades entre los 50 y los 90 años) , el estado del sistema inmunológico del paciente (comprendiendo desde la malnutrición hasta los tratamientos inmunosupresores), cualquier enfermedad subyacente y las diversas intervenciones diagnósticas o terapéuticas hacen mas susceptibles a los individuos de adquirir infecciones durante su estancia en el hospital.(Ochoa, 2000).

## 3. Las condiciones ambientales

Los centros de atención de salud son microambientes en donde interactúan gran cantidad de individuos en su mayoría pacientes con alguna afección infecciosa o crónica, y una cantidad considerable de individuos profesionales en salud generalmente sanos. A este microambiente se le debe sumar toda la materia inerte que entra en contacto con los pacientes y con los profesionales en salud que puede considerarse fómites o reservorios de muchos agentes infecciosos que sobreviven ahí por periodos que van de días hasta meses dependiendo del agente en cuestión. (Kramer, et al 2006).

La flora que se encuentra en el ambiente de los centros de salud se puede clasificar, según la OMS como:

### **A. La flora permanente o transitoria del paciente (Infección endógena).**

Las bacterias presentes en la flora normal causan infección por transmisión a sitios fuera del hábitat natural (vías urinarias), daño a los tejidos (heridas) o un tratamiento inapropiado con antibióticos que permite la proliferación excesiva (*C. difficile*, levaduras). Por ejemplo, las bacterias gram negativas en el aparato digestivo causan a menudo infección en el sitio de una herida después de una intervención quirúrgica abdominal o urinaria en pacientes sometidos a cateterización.

### **B. La flora de otro paciente o miembro del personal (Infección cruzada exógena).**

Las bacterias se transmiten de un paciente a otro: (a) por medio de contacto directo entre pacientes (manos, gotitas de saliva o de otros humores corporales), (b) en el aire (gotitas o polvo contaminado con bacterias de un paciente), (c) por medio de personal contaminado durante la atención del paciente (manos, ropa, nariz y garganta) que se convierte en portador transitorio o permanente y que posteriormente transmite bacterias a otros pacientes mediante contacto directo durante la atención, (d) por medio de objetos contaminados por el paciente (incluso del equipo medico), las manos del personal, los visitantes u otros focos de infección ambientales (por ejemplo, agua, otros líquidos, alimentos).

### **C. La flora del ambiente hospitalario (Infecciones ambientales exógenas endémicas o epidémicas).**

Varios tipos de microorganismos sobreviven bien en el ambiente del hospital:

- En agua, zonas húmedas y, a veces, en otros productos como soluciones “estériles” o desinfectantes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*).
- En artículos como ropa de cama, equipo y suministros empleados para la atención de los pacientes, (la limpieza apropiada normalmente limita el riesgo de supervivencia de las bacterias, puesto que la mayoría de los microorganismos necesitan condiciones húmedas o calientes y nutrientes para sobrevivir).
- En los alimentos.

- En el polvo fino y los núcleos de gotitas generados al toser o hablar (las bacterias de menos de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro permanecen en el aire por varias horas y pueden inhalarse de la misma manera que el polvo fino).

Las personas se encuentran en el centro de las infecciones ambientales, de esta manera:

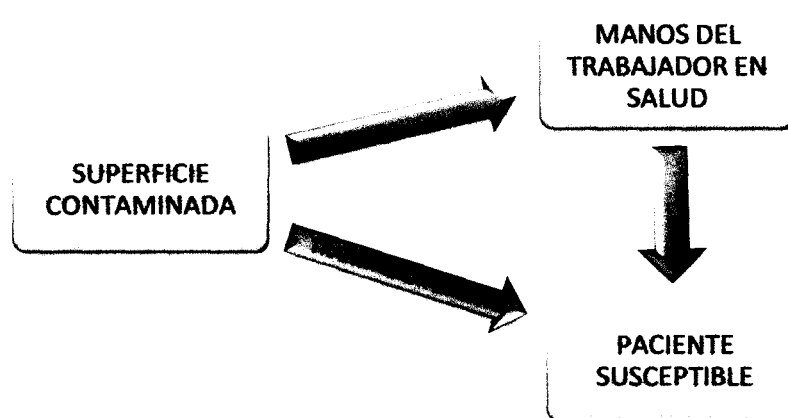
- como principal reservorio y foco de microorganismos,
- como principal transmisor, sobre todo durante el tratamiento,
- como receptor de microorganismos, con lo que se convierten en un nuevo reservorio.

Las superficies también juegan un papel muy importante como fomites, ya que muchos microorganismos sobreviven y continúan potencialmente infecciosos por mucho tiempo, lo cual provoca que aumente la posibilidad de contacto con el paciente directamente como también con el trabajador en salud (Kramer, et al. 2006).

Muchos de los esfuerzos y políticas por parte de la administración pública van dirigidos hacia las buenas prácticas de higiene, las cuales podrían disminuir hasta en un 50% la transmisión de patógenos (Kramer, et al. 2006). Por ejemplo en Costa Rica, Alvarez, en su estudio realizado en el Hospital Nacional de Niños, “Los estetoscopios: posible fuente de infección nosocomial” encontró un 80% de los estetoscopios contaminados y una alta reducción de riesgo de producción de la infección nosocomial al limpiar estos fómites y al tener una adecuada higiene de manos entre los pacientes. (Alvarez, et al. 2005).

Otra investigación, realizada por Jiménez y colaboradores, en el área de oncología de un hospital nacional demostró la presencia de *S.aureus* como único agente microbiano aislado de una superficie al azar, sin embargo en las manos del personal, se encontraron coliformes fecales y totales, *Pseudomonas* sp. en gran parte de las muestras. En este estudio se lograron aislar e identificar 115 cepas, dentro de las cuales destacan géneros como *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, y *Enterobacter* (Jimenez et al., 2004).

La figura 1 describe las interacciones entre las superficies inanimadas y los diferentes actores de la infección nosocomial, con lo cual podemos entender el papel relevante de la adecuada higiene tanto del trabajador en salud como de las áreas que se encuentran en contacto con el paciente.



*Figura 1: Proceso de transmisión común entre las superficies inanimadas y los pacientes susceptibles. (Kramer, et al.2006)*

## **Prevención de las Infecciones Nosocomiales**

La prevención de las infecciones nosocomiales constituye una responsabilidad de todas las personas y todos los servicios de atención en salud.

Por esta razón se han creado los Comités de Control de las Infecciones Nosocomiales, donde el papel del Microbiólogo es velar por que los procesos de desinfección y esterilización se lleven a cabo de manera eficaz y efectiva, tanto en el personal como para todo el medio ambiente.

Por otra parte, es muy importante conocer cual es la flora intrahospitalaria con el fin de realizar una tipificación epidemiológica de los microorganismos del medio.



A nivel mundial las principales estrategias de prevención e intervención tienen como principio la educación y el buen uso de los agentes desinfectantes para todos los trabajadores de las áreas de salud. En este punto es donde la evaluación microbiológica de superficies y de los trabajadores, nos permite instaurar parámetros para optimizar las practicas de atención en salud, por lo que, el objetivo de todo centro de salud debe ser cumplir con los mejores parámetros de calidad (Hota , 2004).

Para esto es importante definir:

**Limpieza:** Empleo de un procedimiento fisicoquímico encaminado a arrastrar cualquier material ajeno al objeto que se pretende limpiar.

**Desinfección de bajo nivel:** Empleo de un procedimiento químico con el que se pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, algunos virus y hongos, pero no el *Mycobacterium tuberculosis* ni las esporas bacterianas.

**Desinfección de nivel intermedio:** Empleo de un procedimiento químico con el que se consigue inactivar todas las formas bacterianas vegetativas, el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, así como la mayoría de los virus y hongos, pero que no asegura necesariamente la destrucción de esporas bacterianas.

**Desinfección de alto nivel:** Empleo de un procedimiento químico con el que se consigue destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas.

**Esterilización.** Empleo de un procedimiento fisicoquímico dirigido a destruir toda la flora microbiana, incluidas las esporas bacterianas, altamente resistentes (Reparáz, et al .2000).

Sobre la base de estos parámetros, la OMS recomienda monitorear las zonas, superficies y diferentes fomites, según sea el riesgo que estos impliquen para el paciente como se observa en la figura 2.

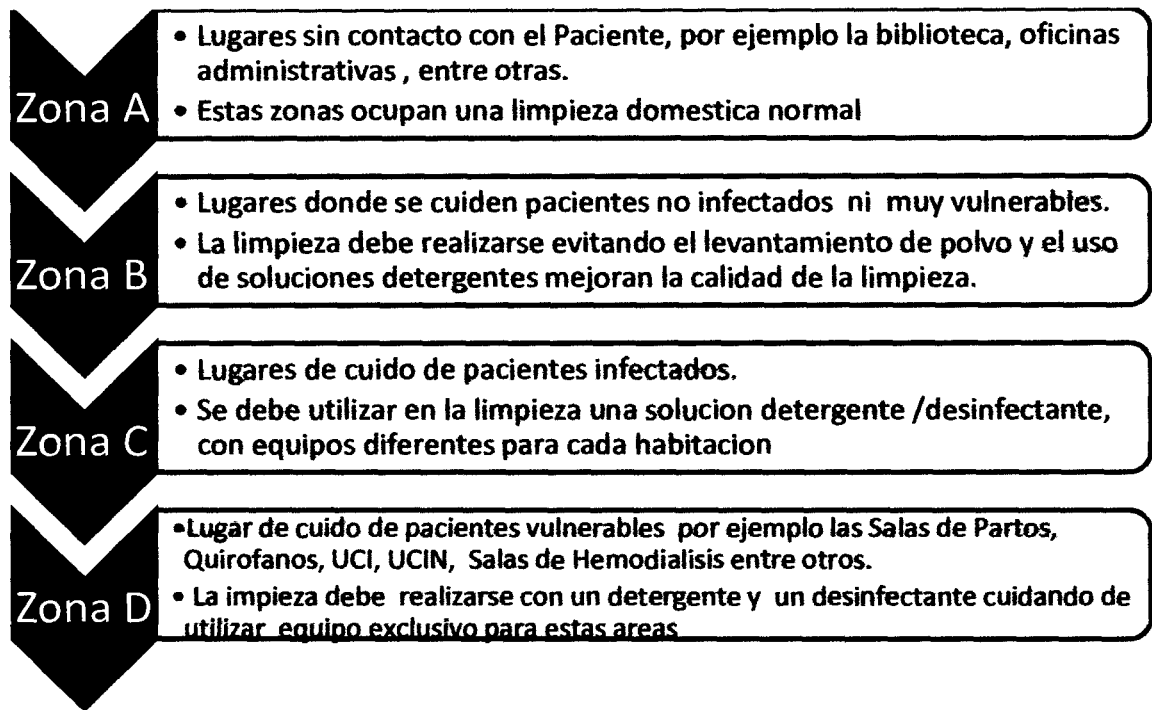


Figura 2: Clasificación de las áreas dentro de un centro de atención en salud. (Ducel, 2003)

Las evaluaciones de estas áreas no siempre deben hacerse por pruebas bacteriológicas sin embargo, estas son recomendadas en varias situaciones especiales como el control de calidad de la purificación del agua para diálisis, o para control de calidad de las prácticas de limpieza. (Ducel, 2003)

Las instalaciones de atención de pacientes tipo B y C, deben tener las siguientes características, que ayudaran a prevenir las infecciones nosocomiales:

- Volumen mínimo de transito de personas
- Separación espacial adecuada entre pacientes
- Acceso adecuado para el lavado de manos
- Sistemas adecuados de ventilación
- Suministros adecuados de agua potable

El ambiente, tanto animado como inanimado, es un elemento en la cadena epidemiológica para la transmisión de infecciones nosocomiales. La desinfección de suelos y superficies, así como la del instrumental y materiales utilizados en la práctica clínica diaria, son la primera herramienta en la lucha contra la transmisión de estas infecciones. La limpieza previa, requisito indispensable para la posterior desinfección, debe ser realizada de tal forma que garantice el resultado del proceso. De manera complementaria, el lavado de manos es una de las prácticas de antisepsia más importante, ya que las manos son el principal vehículo de transmisión de la infección nosocomial (Reparáz, et al .2000)

### **Resistencia microbiana**

La resistencia a los antimicrobianos que presentan los microorganismos, es uno de los retos más grandes que enfrentan los sistemas de salud en todo el mundo.

La OMS, en el informe “Contengamos la resistencia microbiana”, describe que las causas de la aparición de la resistencia bacteriana son opuestas en los países desarrollados y los países en vías de desarrollo. En los primeros la prescripción desmedida de antibióticos, la automedicación y el uso de antimicrobianos en animales como el ganado, provocan que las bacterias desarrollen mecanismos de evasión a estas drogas así como nuevas formas de colonización. Por lo contrario, en los países pobres, los enfermos carecen de recursos para finalizar el tratamiento o lo hacen incorrectamente provocando una presión que selecciona a las más fuertes. Pese a esta diferencia, en ambos casos, el resultado es el mismo: Las bacterias seleccionadas transmiten genéticamente su resistencia a su descendencia ( Ducei, 2003).

Las dimensiones de este problema son cada vez mas grandes y en el ambiente hospitalario toman mayor importancia pues aquí es donde han surgido gérmenes sumamente agresivos y con gran capacidad de diseminarse de un paciente a otro.

## Justificación

Al darse un incremento en la esperanza de vida en nuestro país los servicios de salud deben estar preparados para atender un mayor número de pacientes que por sus características (la edad avanzada y el desarrollo de enfermedades crónicas) los hacen más sensibles a las infecciones nosocomiales.

La infección hospitalaria constituye un tema de extraordinaria actualidad por su frecuencia, gravedad y repercusión económica (Reparáz, et al .2000).

La Diabetes Mellitus, las inmunodeficiencias secundarias principalmente debidas al uso de tratamientos como corticoesteroides, quimioterapias, entre otras, debilitan el sistema inmune predisponiendo a los pacientes a necesitar de los servicios médicos con alta frecuencia.

En la Sala de Curaciones a evaluar, se atienden en promedio 25 pacientes diarios, los cuales consultan este servicio para realizarse procedimientos que van desde el retiro de puntos hasta la curación y desinfección de heridas, pies diabéticos, entre otros. Todos los pacientes se atienden en el mismo lugar, el cual no posee de una infraestructura adecuada ni espacio para la segregación de pacientes por lo que en esta zona se atiende tanto el retiro de hilos de una cesárea como la desinfección de una herida quirúrgica.

La población atendida en este servicio debe contar con los mejores parámetros de calidad e higiene, por lo que conocer la eficiencia de la limpieza y la inocuidad de las superficies que están en contacto con los pacientes se vuelve una necesidad para cualquier centro de salud que pretende ofrecer un servicio de alta calidad y disminuir los gastos de las infecciones nosocomiales.

Por otra parte, la evaluación de la condición microbiológica de este servicio es de suma importancia para la toma de decisiones por parte de las autoridades administrativas de Salud, con el fin de propiciar el bienestar de todos los integrantes de dicha comunidad.

## **Objetivo General**

- **Evaluar el ambiente microbiológico al que están expuestos usualmente los pacientes del área de curaciones de una clínica del CCSS.**

## **Objetivos Específicos**

- **Determinar la presencia de microorganismos indicadores de contaminación en las manos, en las gabachas del personal de la sección, así como de las superficies y otros textiles con los que tienen contacto los pacientes.**
- **Identificar posibles microorganismos patógenos aislados de las superficies, manos del personal y materia textil de la sección.**
- **Realizar la Prueba de Sensibilidad a Antimicrobianos *in vitro* de los microorganismos patógenos aislados.**

## **Materiales y Métodos**

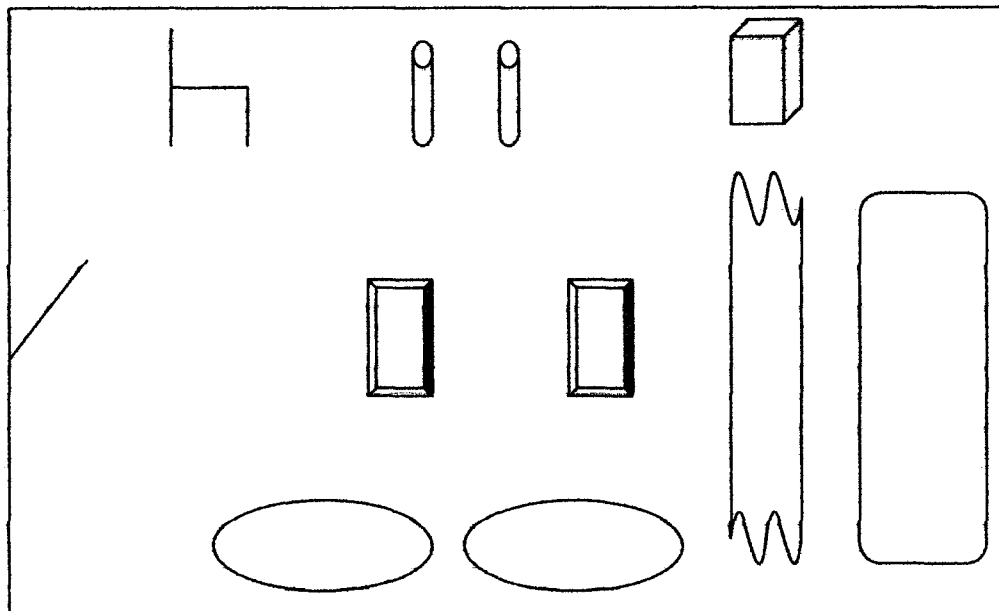
## **Materiales**

- 10 pares de guantes estériles
- 2 botella con 100 mL APE 0,1 %
- 40 tubos con 10 mL APE 0,1 %
- 20 tubos con 9 mL APE 0,1 %
- 20 Bolsas estériles
- 20 Esponjas estériles
- 20 tubos con 9ml Caldo Trypticasa Soya
- 150 placas de petri con Agar Bilis Rojo Violeta
- 75 placas de petri con Agar Standar mas TTC
- 75 placas de petri con Agar Glucosado de Sabouraud
- 12 placas de petri con Agar Centrimida
- 75 placas de petri con Agar Baird Parker
- 12 placas Rodac con Agar Bilis Rojo Violeta
- 6 placas Rodac con Agar Standar mas TTC
- 6 placas Rodac con Agar Glucosado de Sabouraud
- 6 placas Rodac con Agar Centrimida
- 6 placas Rodac con Agar Baird Parker
- Cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* para utilizar como controles.
- 20 pipetas estériles de 1mL
- Reactivos para: tinción de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa.
- Sistema automatizado VITEK ®

## Metodología


### Selección de muestras

La selección de la muestra se realizó según el criterio profesional del Microbiólogo en cargo de la sección de bacteriología de la Clínica donde se realizó el estudio, la cual tomo como principal criterio de selección el contacto que podían tener los pacientes con cada superficie.




**Figura 3: Representación gráfica de la distribución de los diferentes muebles y superficies con los que se encuentran en contacto los pacientes de la Sala de Curaciones a estudiar**


Simbología:


Descansa pies 


Mesa quirúrgica 

Sillón de pacientes 

Lavamanos 

Cortina 

Silla 

Camilla 



## Análisis de superficies

### 1) Mesas quirúrgicas, silla, sillones de pacientes y descansa pies:

- a) Se deslizo una esponja estéril previamente sumergida en 20 ml en Agua Peptona Estéril (APE) al 0,1%, sobre toda la superficie específicamente en las áreas que tiene contacto directo con el paciente, con los instrumentos de curación o con el personal de la sección.
- b) Se introdujo la esponja en una bolsa plástica estéril con el resto del volumen de APE, y se mezcló vigorosamente a fin de obtener una solución homogénea como solución madre, de la cual se realizaron dos diluciones decimales, una directamente de la solución madre al inocular 0,1 en cada medio y la segunda tomando 1 mL de la solución madre, agregándolo en un tubo con 9 mL de APE al 0,1%.
- c) Se inculó, 0,1 mL la solución madre como dilución de  $1 \times 10^{-1}$  y 0,1 mL del tubo para obtener la dilución  $1 \times 10^{-2}$ , en Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV) por esparcido y por duplicado, incubando las placas a 44.5°C por 24 h para la determinación de coliformes fecales (RCF) y a 35°C por 48 h para la determinación de los coliformes totales (RCT).
- d) Se inculó de la solución madre y la dilución de  $1 \times 10^{-1}$  0,1 mL por esparcido y por duplicado en Agar Standard más TTC incubando a 35°C por 48 h para realizar recuento total aerobio mesófilo (RTAM) y en Agar Glucosado de Sabouraud incubando a temperatura ambiente por 5 días para efectuar el recuento de hongos y levaduras (RHL).
- e) Se inculó también de la solución madre y la dilución de  $1 \times 10^{-1}$  0,1 mL, por esparcido y por duplicado en Agar Bair Parker (medio selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*) y se incubó a 35°C por 48 h contra un control positivo.
- f) Se tomó 1 mL de la solución madre y se inculó en 9 mL de caldo tripticasa soya para enriquecer la muestra a fin de favorecer el crecimiento de *Pseudomonas sp.* incubándolo a 35°C por 48 h y del cual se tomó una asada para inocular en Agar Cetrimida (medio selectivo para *Pseudomonas*) incubándolo a 35°C por 48 h.

2) *Lavamanos*

- a) Con guantes estériles se tomó una esponja estéril y se mojó en 20 mL de APE 0.1%, la cual se deslizo vigorosamente sobre toda superficie del lavamanos dando especial énfasis en le desaguadero y en las perillas.
- b) Se devolvió a la bolsa plástica con el resto del volumen y se mezcló vigorosamente a fin de obtener una solución homogénea como solución madre, a partir de esta solución se realizaron las diluciones de  $1 \times 10^{-1}$  y  $1 \times 10^{-2}$ . Todas las soluciones se inocularon e incubaron como se indica en el punto 1.

3) *Manos de las enfermeras*

- a) El personal de la sección coloco ambas manos dentro de una bolsa plástica estéril que contenía una esponja estéril previamente mojada con 100 mL de APE al 0.1%, con la que la persona se masajeara bien sus manos dando énfasis a los espacios interdigitales y las uñas, tratando de obtener una buena muestra.
- b) Se realizaron diluciones decimales hasta  $1 \times 10^{-3}$  a partir de esa solución madre.
- c) Se procedió a inocular e incubar igual que en el punto 1.

4) *Gabachas y Material textil*

- a) Se tomó una placa Rodac de  $25 \text{ cm}^2$  de cada uno de los medios de cultivo sólido citados en el punto 1. Se destapó y colocó la superficie del medio de cultivo sobre el área a analizar, esto se realizo en dos puntos diferentes de cada muestra textil.
- b) Las incubaciones e inoculaciones se llevaron a cabo de acuerdo a las indicaciones dadas en el punto 1.

## **Aislamiento e identificación de patógenos**

### **I. Identificación de Staphylococcus aureus.**

Los crecimientos de colonias sospechosas en Agar Baird Parker se les realizaron una tinción de Gram, una prueba de catalasa, una prueba de coagulasa y una identificación en el sistema automatizado VITEK ®

### **II. Identificación de Pseudomonas**

Los crecimientos en Agar Cetrimida se les realizaron una tinción Gram y pruebas de oxidasa y catalasa. Aquellos bacilos Gram negativos, catalasa y oxidasa positivos, se les identificó utilizando el sistema automatizado VITEK ®.

### **III. Pruebas de sensibilidad a antibióticos**

A las cepas patógenas aisladas, se les realizaron pruebas de sensibilidad a antibióticos por medio del sistema automatizado VITEK ®.

## **Resultados**

De las 7 superficies evaluadas en el primer muestreo dos de ellas presentaron indicadores de contaminación, para el segundo muestreo todas las superficies presentaron indicadores de contaminación y se aislaron posibles patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Candida sp.*

El lavatorio, las manos de las enfermeras y los textiles también presentaron problemas de higiene donde se destacan el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* del Lavamanos.

### Análisis de superficies

Primer muestreo realizado el 16 de noviembre del 2007 a las 11:00 am. durante la jornada de trabajo.

*Cuadro I: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF) y total aerobio mesofilo (RTAM) de las superficies muestreadas durante la jornada de trabajo.*

Superficie	Recuentos (UFC/ superficie)		
	RCT	RCF	RTAM
Mesa Quirúrgica 1	<5	<5	<5
Mesa Quirúrgica 2	<5	<5	<5
Silla	<5	<5	<5
Sillón de pacientes 1	<5	<5	6x10 <sup>6</sup>
Sillón de pacientes 2	<5	<5	<5
Descansa pies 1	<5	<5	4x10 <sup>3</sup>
Descansa pies 2	<5	<5	<5

Como se evidencia en el cuadro I el Sillón de Pacientes 1 y el descansa pies 1 presentaron un recuento total elevado, lo cual nos indica que estas superficies tenia en el momento del muestreo una carga bacteriana considerable sin embargo al no tener coliformes ni patógenos se podrían descartar como posibles fuentes de contaminación.

### Recuento de Hongos y Levaduras

No se obtuvo un dato específico para el recuento de los hongos miceliales y levaduras ya que el número de UFC/placa fue incontable, lo cual nos indica un recuento mayor a  $10^3$  UFC por superficie, sin embargo no se aisló ningún agente de importancia médica en esta ocasión.

### Presencia de Patógenos.

Del sillón de pacientes 1 y del descansa pies 1 se aislaron *Staphylococcus sp.* , coagulasa negativos, dentro de los que destaca *S.haemolyticus*. Por otra parte no se determino la presencia de ninguna *Pseudomonas sp.*

Segundo muestreo realizado el **14 de Diciembre del 2007** a las 7 a.m. antes de iniciar las labores diarias.

En este segundo muestreo todas las superficies presentaron una higiene deficiente además en esta ocasión se dio una separación ideal de las colonias en el recuento de hongos y levaduras donde se pudieron identificar morfológicamente hongos filamentosos como *Penicilium sp.*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus sp.* *Fusarium sp.* estos provinientes principalmente de los sillones de pacientes y de los descansa pies mientras que hongos levaduriformes como *Rodotorula sp.* *Candida sp* se aislaron de las mesas quirúrgicas.

Cuadro II: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las superficies muestreadas antes de iniciar la jornada de trabajo.

Superficie	Recuentos (UFC/ superficie)			
	RCT	RCF	RTAM	RHL
Mesa Quirúrgica 1	<5	<5	5x10 <sup>3</sup>	6x10 <sup>4</sup>
Mesa Quirúrgica 2	<5	<5	4x10 <sup>3</sup>	6x10 <sup>3</sup>
Silla	<5	<5	6x10 <sup>3</sup>	4x10 <sup>3</sup>
Sillón de pacientes 1	<5	<5	6x10 <sup>3</sup>	8x10 <sup>3</sup>
Sillón de pacientes 2	<5	<5	1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>4</sup>
Descansa pies 1	<5	<5	1x10 <sup>4</sup>	5x10 <sup>3</sup>
Descansa pies 2	3x10 <sup>3</sup>	<5	6x10 <sup>4</sup>	6x10 <sup>4</sup>

En este segundo muestreo continúa mostrándose altos recuentos totales aerobios mesófilos y además se logran cuantificar e identificar gran cantidad de hongos y levaduras donde destacan *Penicilium sp.*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus sp.* *Fusarium sp.* estos provinientes principalmente de los sillones de pacientes y de los descansa pies mientras que hongos levaduriformes como *Rodotorula sp.* *Candida sp* se aislaron principalmente de las mesas quirúrgicas.

En este caso si se logro aislar microorganismos potencialmente patógenos por lo que se podria asociar estas superficies como fuentes de contaminación.

## Presencia de Patógenos.

### Staphylococcus aureus

No se logró aislar *S.aureus* sin embargo se aislaron otros *Staphylococcus* coagulasa negativos como *S.simulans* y *S.wernerii*.

### Pseudomonadacea

Se identificaron con el sistema Vitek II® los bacilos gram negativos, oxidasa positivos de la siguiente manera.

*Cuadro III: Aislamientos de patógenos de las superficies muestreadas antes de iniciar la jornada de trabajo.*

<b>Superficie</b>	<b>Microorganismo aislado</b>	<b>Bionúmero de identificación</b>
Mesa Quirúrgica	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	305300350000
Silla	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	300110220000
Descansa pies	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	305300140000

Los bionúmeros de identificación del Sistema Vitek corresponden a la identificación bioquímica de las cepas y nos sugieren cepas diferentes.

### Análisis de las manos de las Enfermeras

Muestreo realizado el 16 de noviembre a las 11:00 a.m. durante la jornada de trabajo.



Cuadro IV: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las Manos de las enfermeras durante la jornada de trabajo.

<b>Personal</b>	<b>Recuentos (UFC/ superficie)</b>			
	<b>RCT</b>	<b>RCF</b>	<b>RTAM</b>	<b>RHL</b>
<b>Manos de la Enfermera 1</b>	<10	<10	$2 \times 10^6$	<10
<b>Manos de la Enfermera 2</b>	<10	<10	$1 \times 10^6$	<10

Según el cuadro anterior, destaca la ausencia de coliformes totales y fecales descartando la contaminación fecal sin embargo el recuento total aerobio mesófilo muestra una alta carga bacteriana.

### Presencia de Patógenos

Se aislaron *Staphylococcus* coagulasa negativos como *S.weneri* y no se aisló ningún miembro de la familia Pseudomonadacea.

### Análisis del Lavamanos

Muestreo realizado el 14 de diciembre del 2007 a las 7 a.m.

En la evaluación del lavamanos llama la atención, como se observa en el cuadro V, el recuento total el cual presenta  $1 \times 10^5$  UFC además del alto recuento de coliformes totales, sin embargo debido a su función, es de esperar estos resultados

Cuadro V: Resultados del recuento de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) del Lavamanos al inicio de la jornada de trabajo.

Superficie	Recuentos (UFC/ superficie)			
	RCT	RCF	RTAM	RHL
Lavatorio	6x10 <sup>3</sup>	<10	1x10 <sup>5</sup>	<10

### Presencia de Patógenos

Se aisló *Staphylococcus* coagulasa negativo, entre los cuales se logro identificar *S.haemolyticus* y *S.wernerii* los cuales no se les ha conferido ningún significado clínico.

Respecto al aislamiento de miembros de la familia Pseudomonadace se realizaron dos aislamientos diferentes de esta superficie identificados como *P.aeruginosa* uno con un mayor producción de pigmentos y menor tiempo de generación y el otro con un morfología atípica: más pequeña, sin pigmento y con un mayor tiempo de generación. El cuadro VI muestra la identificación realizada.

Cuadro VI: Diferentes aislamientos de *P.aeruginosa* provenientes del Lavamanos de la Sala de Curaciones.

Lavamanos	Microorganismo aislado	Bionúmero de identificación
Colonia grande, productora de pigmento	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3053003500000
Colonia pequena, sin pigmento	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3051103500352

## Análisis de Textiles

Muestreo realizado el 14 de diciembre del 2007 a las 11:30 a.m.

El Análisis de las tres muestras textiles se muestra en el cuadro VII. Al enfrentar estos resultados a las normas de la Federal Estandard D209E, British Estandard D y la ISO 209. Los resultados se consideran insatisfactorios ya que estas normas admiten un número no mayor a 6 UFC en 25 cm<sup>2</sup>. (Delgado, et al.2004)

*Cuadro VII: Resultados de los recuentos en placa rodac, de coliformes totales (RCT), fecales (RCF), total aerobio mesofilo (RTAM) y de hongos y levaduras (RHL) de las tres muestras textiles analizadas en esta evaluación*

	Recuentos (UFC/ 25cm <sup>2</sup> )			
Superficie	RCT	RCF	RTAM	RHL
Cortina	<5	<5	20	6
Gabacha	<5	<5	64	5
Camilla	<5	<5	27	3

## Presencia de Patógenos

Se obtuvo un aislamiento de *Staphylococcus coagulasa* negativos identificado como *S.xylosus* y no se aisló ningún miembro de la familia Pseudomonadaceae.

## Pruebas de sensibilidad a antibióticos de los patógenos aislados

Como se puede observar en los cuadros III y VI se realizaron 3 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* con bionúmeros diferentes, sin embargo estos aislamientos se encuentran estrechamente relacionados entre si, como podemos observar en su perfil de sensibilidad a antibacterianos expuestos en los cuadros VIII, IX y X, este es el perfil esperado para una *Pseudomonas sp.* Inocua. Por otra parte cabe denotar que la *P.aeruginosa* 3053003500000 que se aisló, se encontró tanto en el lavamanos como en la mesa quirúrgica.

Cuadro VIII: Perfil de sensibilidad a antibióticos de *P.aeruginosa* bionúmero 3053003500000 aislada de el Lavamanos y de la Mesa quirúrgica de la sala de curaciones.

Antibiótico	CMI	Interpretación
<b>Ampicilina</b>	$\geq 32$	R
<b>Ampicilina/Sulbactam</b>	$\geq 32$	R
<b>Piperacilina/Tazobactam</b>	8	S
<b>Cefazolina</b>	$\geq 64$	R
<b>Cefotetan</b>	$\geq 64$	R
<b>Ceftazidima</b>	2	S
<b>Ceftriaxona</b>	16	R*
<b>Cefepima</b>	2	S
<b>Aztreonam</b>	2	S
<b>Imipenem</b>	$\leq 1$	S
<b>Amicacina</b>	$\leq 2$	S
<b>Gentamicina</b>	$\leq 1$	S
<b>Tobramicina</b>	$\leq 1$	S
<b>Ciprofloxacina</b>	$\leq 0,25$	S
<b>Levofloxacina</b>	$\leq 0,25$	S
<b>Nitrofurantoina</b>	$\geq 512$	R
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	80	R

Cuadro IX: Perfil de sensibilidad a antibióticos de *P.aeruginosa* bionúmero 3051103500352 aislada del Lavamanos de la sala de curaciones.

Antibiótico	CMI	Interpretación
<b>Ampicilina</b>	$\geq 32$	<b>R</b>
<b>Ampicilina/Sulbactam</b>	$\geq 32$	<b>R</b>
<b>Piperacilina/Tazobactam</b>	<b>8</b>	<b>S</b>
<b>Cefazolina</b>	$\geq 64$	<b>R</b>
<b>Cefotetan</b>	$\geq 64$	<b>R</b>
<b>Ceftazidima</b>	<b>4</b>	<b>S</b>
<b>Ceftriaxona</b>	<b>16</b>	<b>R*</b>
<b>Cefepima</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Aztreonam</b>	<b>16</b>	<b>I</b>
<b>Imipenem</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Amicacina</b>	$\leq 2$	<b>S</b>
<b>Gentamicina</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Tobramicina</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Ciprofloxacina</b>	$\leq 0,25$	<b>S</b>
<b>Levofloxacina</b>	<b>1</b>	<b>S</b>
<b>Nitrofurantoina</b>	$\geq 512$	<b>R</b>
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	$\geq 320$	<b>R</b>

*Cuadro X: Perfil de sensibilidad a antibióticos de P.aeruginosa bionúmero 3053001400000 aislada del Descansapies de la sala de curaciones.*

Antibiótico	CMI	Interpretación
<b>Ampicilina</b>	$\geq 32$	<b>R</b>
<b>Ampicilina/Sulbactam</b>	$\geq 32$	<b>R</b>
<b>Piperacilina/Tazobactam</b>	$\leq 4$	<b>S</b>
<b>Cefazolina</b>	$\geq 64$	<b>R</b>
<b>Cefotetan</b>	$\geq 64$	<b>R</b>
<b>Ceftazidima</b>	2	<b>S</b>
<b>Ceftriaxona</b>	16	<b>R*</b>
<b>Cefepima</b>	2	<b>S</b>
<b>Aztreonam</b>	2	<b>S</b>
<b>Imipenem</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Amicacina</b>	$\leq 2$	<b>S</b>
<b>Gentamicina</b>	2	<b>S</b>
<b>Tobramicina</b>	$\leq 1$	<b>S</b>
<b>Ciprofloxacina</b>	$\leq 0,25$	<b>S</b>
<b>Levofloxacina</b>	0,5	<b>S</b>
<b>Nitrofurantoina</b>	$\geq 512$	<b>R</b>
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	80	<b>R</b>

\*: Resistencia intrínseca, por lo que el sistema Vitek lo identifica como resistente según las normas C.A.R

**Discusión**

Al realizar la evaluación de las superficies de esta sala de curaciones es muy sencillo comprender como el ambiente donde se desenvuelven los pacientes cumple un papel trascendental en la triada de factores que confluyen para el desarrollo de una infección nosocomial.

Por otra parte, podríamos inferir después de dar un vistazo general a los resultados que la higiene de esta sala es insuficiente, a su vez aislamiento de patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* es preocupante e indicativo de que estas superficies podrían ser eventualmente fuentes de infección.

En primer lugar, el muestreo de superficies se realizó modificando varios aspectos de la técnica usual, la cual utiliza una torunda humedecida en un área de 25cm<sup>2</sup>, en este caso se utilizó una esponja estéril sumergida en agua peptonada estéril y se muestreo la totalidad de la superficie.

En el monitoreo ambiental existen varios tipos de técnicas muestreo como el muestreo con torunda, con esponja y con placas de Agar-contacto RODAC, usualmente se utiliza el muestreo con torunda sin embargo se conoce que estas pueden inhibir el crecimiento de algunos microorganismos (Rojas, *et al.* 2006) además se desecan fácilmente y hay pérdida de muestra.

Por su parte la metodología de muestreo con esponja se encuentra descrita por Silliker y Gabis en 1975 (APHA, 1998), esta técnica se ha utilizado exitosamente en el aislamiento de patógenos como *Salmonella* y *Listeria* sin embargo no existen normas basadas en este tipo de muestreo (APHA, 1998)

En esta evaluación encontramos recuentos con un numero de UFC/superficie mayor a los que comúnmente se reportan en un muestreo con torunda, comparando con otros estudios como el realizado en la sección de emergencias quirúrgicas de un hospital nacional donde solo 3 superficies planas presentaron mas de 25 UFC/cm<sup>2</sup> (Delgado y Morera, 2007), sin embargo hay que tomar en cuenta que estos datos podrían corresponder a un idea general de la flora total de la superficie mientras que cuando se realiza un muestreo al azar



de 25 cm<sup>2</sup> es posible que se realice en un área con una menor o mayor carga bacteriana a la que se encuentra en la totalidad de la superficie.

En el primer muestreo, realizado durante el trabajo (11 am), el número de UFC fue menor para todos los parámetros medidos excepto en el recuento de hongos y levaduras, mientras que en el segundo muestreo, realizado a las 7 a.m., de todas las superficies se obtuvo un mayor número de UFC, sin embargo los recuentos de hongos y levaduras fueron menores haciendo posible observar e identificar morfológicamente hongos ambientales y de importancia médica.

Estos datos no son los esperados ya que lógicamente pensaríamos que la mayor carga bacteriana se debería encontrar mientras se trabaja, avanzada la jornada y no a las 7 a.m. donde se supone que estas superficies se encuentran limpias y desinfectadas, gracias a la limpieza que se efectúa todas las tardes al terminar el trabajo.

Existen varias razones que podrían explicar estos resultados:

- En primer lugar, por una limpieza deficiente en la sala ya que el agente básico es el detergente. Su objetivo es la eliminación física de materia orgánica y de la contaminación de los objetos. Cronológicamente, la limpieza es un paso previo a la desinfección, por lo que constituye un factor de importancia prioritaria, ya que su ejecución incorrecta o defectuosa planteará múltiples problemas para la realización de posteriores procesos tales como la desinfección o la esterilización (Repáraz, et la 2000). La Limpieza puede ser ineficiente por falta de capacitación del personal, por uso de detergentes inadecuados o a concentraciones mas bajas de lo que se requiere, como también se ha documentado la capacidad de microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* de crecer y colonizar algunos jabones y desinfectantes (Ducel,2003).
- Por otra parte es posible que durante el trabajo, el personal de enfermería tenga buenas practicas de higiene entre pacientes y sea por esta razón que el recuento fuera menor durante la jornada de trabajo. Una revisión sistemática

sobre el lavado de manos demuestra que con el cumplimiento del buen lavado de manos entre pacientes se puede reducir en más de un 50% las tasas de infección (Larson E. y Kretzer EK., 1995)

- Por ultimo, otra posibilidad es que el flujo de personas en la sala de curaciones no permitiera estimar cuantas bacterias se transmitieron de los fomites hacia los pacientes, disminuyendo así la carga bacteriana en las superficies.

Respecto a cada uno de las superficies analizadas es muy importante destacar el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* de la mesa quirúrgica y el descansa pies así como el aislamiento de *Pseudomonas stutzeri* proveniente de la silla.

Los aislamientos de *P. aeruginosa* muestran que estas superficies son potenciales fuentes de infección, la literatura reporta que la presencia de *Pseudomonas* se relaciona directamente con las infecciones nosocomiales (Ducel, 2003). Las especies de este genero se encuentra ampliamente difundidas en la naturaleza y se relacionan en la patología medica; la especie que más se aislado es *Pseudomonas aeruginosa* capaz de permanecer por tiempos prologados en condiciones húmedas (Kramer, et al. 2006), y hasta se ha encontrado como agente etiológico de un brote en pacientes posmastectomizadas en un área de atención ambulatoria de heridas quirúrgicas (Vilar-Compote, et al. 2003).

La literatura reporta que los brotes por *Pseudomonas* representan el 5% de las infecciones nosocomiales, la cual se ha asociado con la contaminación de fuentes comunes como agua, antisépticos y equipo medico (Wendt y Herwaldt,1997).

La mesa quirúrgica es un punto crítico ya que esta superficie se encuentra en contacto con todos los instrumentos quirúrgicos y demás implementos que entran en contacto directo con los pacientes.

En el brote en pacientes posmastectomizadas la *P. aeruginosa* fue aislada de las narinas de la enfermera y de las gasas depositadas en la mesa (Vilar-Compote, et al. 2003).

Recientemente el estudio de una sección de emergencias quirúrgicas de un hospital nacional, realizadas por Delgado y Morera, reporto el aislamiento de *P. aeruginosa* de varias superficies planas, lavamanos, gabachas y materiales textiles (Delgado y Morera, 2007).

Widmer y colaboradores han postulado la transmisión de *Pseudomonas* a través de las manos del personal de salud como mecanismo frecuente de transmisión en un brote, otra de las vías de colonización y transmisión que se postulan es la contaminación cruzada tanto en brotes como en condiciones habituales. Por último, su aislamiento se ha utilizado como indicador de un bajo apego a las medidas de control de infecciones (Widmer, et al 1993).

Particularmente la Silla y el descansa pies son superficies que tienen menor contacto con el paciente sin embargo funcionan como fómites que pueden participar en la transmisión por contaminación cruzada, convirtiéndose en posibles fuentes de infección nosocomial.

En relación con los recuentos de hongos y levaduras el aislamiento de hongos filamentosos se debe a la forma de transmisión propia de este grupo, las esporas suspendidas en el aire son su forma de diseminación y además su crecimiento se ve favorecido por la humedad (Rodríguez, et al. 2004).

El aire comúnmente cuenta con gran cantidad de esporas que forma parte de la carga microbiana normal. La literatura reporta que el recambio del aire en lugares en cuartos y salas de atención contribuye a disminuir la carga microbiana (Ducel, 2003).

Esto es de especial importancia cuando se trata de pacientes inmuno comprometidos donde hongos filamentosos como *Aspergillus sp.* y *Fusarium sp.* los caules se han asociado a infecciones nosocomiales, principalmente a las infecciones del tracto respiratorio (Gross, et al. 2004)

El aislamiento de hongos levaduriformes como *Candida sp.* y *Rodotorula sp.* de la mesa quirúrgica reafirma la gran importancia que tiene esta superficie. Entre los agentes fúngicos, muchos datos bibliográficos involucran a varias especies de *Candida* como agente etiológico de infección nosocomial (Lebeque, 2006). Este género utiliza la contaminación cruzada como principal forma de transmisión, y se ha logrado comprobar su permanencia hasta por 45 minutos en las manos del personal sanitario (Galvan, 2006).

En el análisis de las Manos de las enfermeras que trabajan en esta sala de curaciones se encontraron menos de 10 UFC de coliformes fecales y totales y menos de 10UFC de Hongos y Levaduras, lo cual nos indican una higiene adecuada por parte del personal de salud.

Sin embargo, en el recuento total aerobio mesófilo se encontraron  $10^6$  UFC, estos datos deben ser interpretados a la luz de una norma, al igual que en la industria alimentaria donde recuentos mayores a 100 UFC/mano son inaceptables (Arias, et al.2006). Esta gran cantidad de bacterias podrían pertenecer a la flora normal de las manos de las enfermeras debido a que las bacterias presentes en la piel se encuentran principalmente en la capa córnea, pero también pueden estar presentes en otros estratos e incluso en las glándulas sudoríparas. Estas bacterias que viven en profundidad, sólo comienzan a ser eliminadas después de 15 minutos de enérgico cepillado, determinando que sea imposible esterilizar la piel sin destruirla (Repáraz, et la 2000).

El aislamiento de *Staphylococcus coagulasa negativos* de las manos de las enfermeras carece de significado clínico, ya que estos son parte de la flora normal de piel y rara vez se han asociado a infecciones nosocomiales, a excepción de *S. epidermidis* el cual se ha encontrado como agente causal de endocarditis y bacteremias nosocomiales (Ayliffe, 1999).

En el caso del análisis del Lavamanos, debido a la naturaleza de este instrumento es natural encontrar la presencia de *Staphylococcus coagulasa negativos*, recuentos totales de  $10^5$  UFC y coliformes totales de  $10^3$  UFC. Sin embargo el aislamiento de dos cepas *Pseudomonas aeruginosa* es totalmente inaceptable, ya que esta bacteria es el patógeno

humano más importante del género *Pseudomonas* con respecto al número y tipos de infecciones ocasionadas y a la morbilidad y mortalidad asociada (Murray, 2003).

Este patógeno ha tomado gran importancia en el último siglo ya que presenta una resistencia a antibióticos y desinfectantes que eliminan otras bacterias ambientales (Stover, et al.2000) por otra parte *P. aeruginosa* afecta a una gran cantidad de pacientes cuyas defensas contra la infección están comprometidas por un trauma o una enfermedad de fondo (Baltch,1994), y el espectro de enfermedades causadas por este agente se extienden desde infecciones superficiales de la piel como en quemaduras, hasta sepsis fulminantes(Murray, 2003).

La Dra. Madriz, en su estudio “Caracterización molecular de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas a partir de pacientes del hospital Mexico” encontró clones con factores de virulencia y perfiles de resistencia a antibióticos asociados a servicios particulares donde se sugiere el predominio de esos clones en esos servicios y la importancia el manejo adecuado de los pacientes atendidos en dichos lugares (Madriz , 2007).

Por lo tanto, aunque en esta evaluación no se realizó la identificación molecular de las cepas aisladas, según el perfil bioquímico de identificación realizado, se observa que el lavamanos es un punto crítico en esta sala y que podría ser la fuente primaria de contaminación.

En el análisis de los textiles todas las muestras se encontraron con una higiene deficiente de acuerdo a normas de calidad utilizadas en la industria como lo son la de la Federal Standard D209E, la British Standard D y la ISO 209. Los resultados se consideran insatisfactorios ya que estas normas admiten un número no mayor a 6 UFC en 25 cm<sup>2</sup>. (Delgado, et al.2004).

Los textiles, están en contacto con otras superficies y transportan partículas viables por lo que pueden participar de la contaminación cruzada (Delgado, et al.2004).

Al igual que en las otras superficies el aislamiento de *Staphylococcus xylosum*, no tiene significado clínico (Ayliffe, 1999).

Al analizar el perfil de sensibilidad a Antibióticos, el comportamiento de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas es similar al de una cepa inocua sin embargo es importante recordar que la amplia capacidad regulatoria que posee esta bacteria le provee una gran adaptación de resistencia a drogas mediante la regulación de genes, en comparación con otras bacterias que poseen genomas mas pequeños (Stover et al,2000).

Además, debido a su capacidad para metabolizar una amplia variedad de sustratos orgánicos, es posible que *P.aeruginosa* posea un gran potencial para la modificación enzimática y ostente de mecanismos de resistencia degradadores de drogas (Stover et al,2000).

Se ha demostrado ampliamente que la resistencia de *Pseudomonas* es multifactorial ya que en ella participan mutaciones en genes codificando porinas, bombas de eflujo, proteínas unidoras de penicilina y beta lactámicas cromosomales. Estos mecanismos contribuyen a la resistencia a beta lactámicos, carbapenems, aminoglicosidos y fluroquinolonas y estos genes pueden estar localizados en tanto en el cromosoma, plásmidos o integrones (Murray, 2003).

La resistencia a antibióticos es un problema clínico en aumento y es reconocido como una amenaza a la salud pública, *P. aeruginosa* muestra una particular tendencia a desarrollar resistencia, lo cual limita las futuras elecciones de tratamiento y esta asociado con elevaciones en las tasas de mortalidad y morbilidad (Carmeli, et al.1999).

Los mecanismos de resistencia a antibióticos tanto adquiridos como intrínsecos hacen de *Pseudomonas aeruginosa* un formidable patógeno nosocomial (Quale, 2006) por lo tanto es de suma importancia evitar su aislamiento en superficies y otros fómites causando un impacto favorable en el control de las infecciones nosocomiales.

## **Conclusiones**

- Las evaluaciones microbiológicas del ambiente en los Centros de Atención en Salud son muy importantes ya que contribuyen a conocer la flora bacteriana a la que se esta enfrentando un determinado grupo de individuos, sin embargo deben ser interpretadas cuidadosamente ya que el ambiente es sólo uno de los factores de la triada epidemiológica de las infecciones, y siempre hay que tomar en cuenta el origen multifactorial de la infección.
- La técnica de muestreo de superficies con esponja demostró, en esta evaluación, ser útil para el aislamiento de patógenos y para el recuento de indicadores.
- Es necesario revisar todos los procedimientos de limpieza y desinfección de las superficies de esta sala de curaciones, debido a que los resultados analizados demuestran una deficiencia clara en la limpieza y desinfección.
- El aislamiento de *Pseudomonas sp.* de varias de las superficies evaluadas demuestra el posible riesgo al que se enfrentan los usuarios de esta sala de curaciones, esta situación debe corregirse y controlarse.
- La Infraestructura de esta sala de curaciones contribuye en el alto recuento de hongos y levaduras debido a la ausencia de un recambio de aire adecuado.
- Las manos del personal de enfermería tiene una higiene aceptable, y además no se aislaron patógenos de ellas confirmando una vez más la importancia del lavado de manos.
- El lavamanos es un punto crítico de esta sala de curaciones ya que al estar colonizado por *Pseudomonas aeruginosa* participa activamente en el proceso de transmisión de estas bacterias a los usuarios a través de la contaminación cruzada, la cual se comprobó al aislar dos cepas con el mismo bionúmero de identificación de dos sitios diferentes, una del lavamanos y otra de la mesa quirúrgica; esto también se confirma la alta posibilidad de que este implemento sea una fuente de infección.
- La Gabacha, las cortinas y la camilla se encontraron inaceptables según las normas que utiliza la industria para cuartos pre estériles, por lo tanto es importante regular la frecuencia con la que se cambian y lavan estos implementos con el fin de que estos materiales textiles tengan con recuentos aceptables y no participen como fuentes de infección ni como medios de transmisión.



- Como se reporta ampliamente en la literatura (Kramer, et al 2006) el aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativos no tiene importancia clínica y son flora normal de muchas superficies en el ambiente hospitalario.
- Encontrar *Pseudomonas sp.* en 3 superficies y el lavamanos de esta sala de curaciones demuestran un proceso de limpieza deficiente y se asocia a un bajo apego a las medidas del control de infecciones nosocomiales.

## **Recomendaciones**

- Con el fin de realizar acciones correctivas, esta sala de curaciones debe ser evaluada repetidas veces por lo que se recomienda utilizar este proceso para estandarizar la técnica de muestreo y establecer valores de referencia para cada recuento y cada superficie.
- Es recomendable revisar los procedimientos de limpieza que se están utilizando, las diluciones de las soluciones detergentes y desinfectantes, así como asegurar la capacitación del personal de limpieza.
- Con el fin de optimizar recursos, una vez establecidos los valores de referencia recomiendo establecer un programa de Aseguramiento de Calidad de la limpieza y la inocuidad de las superficies en el cual se hagan muestreos semanales a los puntos críticos, y muestreos mensuales a todas las superficies.
- Recomiendo a la administración de la clínica evaluar la posibilidad de mejorar la infraestructura de la sala de curaciones con el fin de asegurar la calidad del servicio que se le ofrece a los usuarios. Entre las posibles mejoras que deberían ser prioridad para las autoridades de este centro se encuentran: remplazar el lavamanos de perrillas por un lavamanos con sensor de movimiento, incorporar el uso de soluciones alcohólicas para la desinfección de las manos del personal, mejorar el sistema de ventilación de la sala y controlar la humedad de la sala.
- Respecto a los textiles se recomienda utilizar una gabacha limpia todos los días, y al igual que cualquier otro implemento textil que tenga contacto directo con los pacientes.
- Las cortinas deben ser remplazadas aun cuando no tengan signos de suciedad visual por lo menos una vez al mes o cuando presenten suciedad visible.
- Se recomienda realizar un plan de seguimiento de las infecciones que presenten los usuarios de este servicio con el fin de poder encontrar los puntos críticos de transmisión y así poder disminuir el número de infecciones que se presentan. Este plan debe de estar a cargo del comité de infecciones nosocomiales de la institución, donde el Personal de Laboratorio Clínico debe tener un papel preponderante en la toma de decisiones y en la propuesta de acciones correctivas.
- Se recomienda orientar futuras investigaciones en la identificación de todos los microorganismos productores de infección en los usuarios del servicio, conocer su

prevalencia, su perfil de sensibilidad ante los antimicrobianos y de ser posible realizar la caracterización molecular con el fin de conocer los clones que se mantienen en el centro de salud y así prever la transmisión de genes de resistencia .

## **Referencias**

- Álvarez T, Herrera JF y Ávila ML. "Estetoscopios: fuente potencial de infección nosocomial". Acta pediatr.costarric v.19 n.1 San José.2005
- American Public Health Association. "Compendium of methods for the microbiological examination of food", Cuarta edición, 1998. Capítulo :3.
- Ayliff GA J, Babb JR, Taylor LJ.Hospital-acquired infection: principles and prevention. Third edition. Butterworth Heinemann.1999.pags 1-34.
- Baltch A. *Pseudomonas aeruginosa* infections and treatment.USA: Informa Health Care
- Beneson, AS. Control of communicable diseases manual, 16th edition. Washington, American Public Health Association, 1995.
- Blanco, N. "Estudio epidemiológico sobre la colonización e infección Nosocomial en Paciente Fallecidos en el Hospital Nacional de Niños, 2005-2006."Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. 2006.
- Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos G y Samore M. Risk Factors and Clinical Outcomes of Nosocomial Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections .Journal of Hospital Infection. Vol 57:112-118.
- Delgado M, Pérez L y Arias J. "Determinación de los parámetros de la contaminación microbiana presente en un área de fabricación de medicamentos estériles a base de Antibióticos beta- lactámicos." Universitas Scientiarum Vol 9, No.2, 23-33. 2004
- Delgado R, Morera E. Evaluación Microbiológica del ambiente en la sección de Emergencias Quirúrgicas de un Hospital Nacional. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, 2007
- Ducel G, Fabry J y Nicolle L. Prevencion de las Infecciones Nosocomiales. Guía Práctica. Segunda edición. Organización Mundial de la Salud.2003.
- Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales. Mai-Juin 1996. Comité technique national des infections nosocomiales. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire, 1997, No 36.

- Gross N, Campos I, Carrillo P. Manual de Procedimientos en Micología Medica. Segunda edición. Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología.2004.
- Hota B. "Contamination, Disinfection, and Cross-Colonization: Are Hospital surfaces reservoirs for Nosocomial Infection?". *Clinical Infectious Diseases*.2004; 39:1182-1189.
- Jimenez F, Garro L, Rodriguez E y Zeledon Z. "Evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente de una sección de oncología de un hospital nacional, San José, Costa Rica". *Arch. Latinoam. de Nutrición*, 2004; 54; 303-307.
- Kramer A, Schwebke I y Kampf G. "How Long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review". *BMC Infectious Diseases* 2006, 6:130. Disponible en internet como: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/6/130>
- Larson E., Kretzer EK. Compliance with handwashing and barrier precautions. *Journal of Hospital Infection* 1995; 30 (Supp):88-106.
- Madriz V. Caracterización Molecular de Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas a partir de pacientes del Hospital México. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, 2007
- Mora, N. Importancia de la infección nosocomial. Comunicación oral. 2006
- Murray P. *Manual of Clinical Microbiology USA*: ASM Press.2003
- Ochoa J. La importancia de conocer las infecciones nosocomiales. Servicio de Infectología. Hospital Docente "Vicente Corral Mocosó". 2000. Disponible en internet: <http://www.usfq.edu.ec/ura/pdf9/6-11.pdf>
- Quale J, Bratu S, Gupta J y Landman D. Interplay of Efflux System, ampC, and oprD Expression in Carbapenem Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006 (Vol 50)5:1633-1641.
- Repáraz F, Ariza P, Artajo P, Sánchez M.T y Escobar E. "Limpieza y desinfección en el hospital". *ANALES Sis San Navarra* 2000, 23 (Supl. 2): 81-93. 2000.

Rodríguez E, Gamboa M, Hernández F, García J. Bacteriología General: Manual de Laboratorio. Segunda edición. Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología. 2004.

Stover C, Pham X, Erwin A, Mizoguchi S, Warrenner P, Hickey M, Brinkman F, Hufnagle W, Kowalik D, Lagrou M, Garber R, Goltry L, Tolentino E, Westbrook-Wadman S, Yuan Y, Brody L, Coulter S, Floger K, Kas A, Larbig M, Hancock R, Lory S y Olson M. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. Nature Vol 46: 959-964.

Tikhomirov E. Programme for the Control of Hospital infections, Organización Mundial de la Salud. 1987. 3:148-151.

Widmer A, Wenzel R, Trilla A, Bale MJ, Jones R, Doebbeling B. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: Probable Transmission via hands of a health care worker. Clin Infect Dis 1993;16: 372-376.