



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

IDENTIFICACIÓN DE *PSEUDOMONA AERUGINOSA* EN EL EQUIPO DE ANESTESIA
INHALATORIA EN 20 CLÍNICAS Y HOSPITALES VETERINARIOS DE LA CIUDAD
DE QUITO MEDIANTE ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Médico Veterinario y Zootecnista

Profesor Guía
Dr. Freddy Proaño Pérez

Autora
Ana Belén Guzmán Sandoval

Año
2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Freddy Proaño Pérez
Ph.D.
CC. 1002081162

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

Ana Belén Guzmán Sandoval
CC. 171596560-2

DEDICATORIA

Dedico este estudio a mis padres y abuelos por generar en mí un hambre de conocimiento que me ha permitido entender situaciones con la mente más abierta.

RESUMEN

Las bacterias del género *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos, aerobios o anaerobios facultativos, patógenos oportunistas de animales, humanos y plantas, de distribución mundial y generalmente de origen intrahospitalario. Este estudio se realizó con el objetivo de determinar presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en las mangueras de los circuitos anestésicos inhalatorios. Durante los meses de Junio a Agosto del año 2015 se realizó el cultivo *in vitro* utilizando un muestreo único con hisopado de los sitios de unión de las mangueras de anestesia inhalatoria (con la máquina y con el tubo endotraqueal o mascarilla), procedente de 20 establecimientos veterinarios de Quito. Se utilizó medio de transporte Stuart para el traslado de las muestras al Laboratorio LQ7 de Microbiología de la Universidad de las Américas, donde se realizó el cultivo *in vitro* en medio de cultivo MacConkey, P y Müller-Hinton, y la aplicación de pruebas bioquímicas de oxidasa y catalasa para confirmar su identificación.

En total, se aisló en 15% de muestras *Pseudomonas putida* y en otro 15% presencia bacteriana no perteneciente al género *Pseudomonas*. Todos los resultados fueron relacionados a una encuesta realizada previamente que determinaba 5 variables (frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria, tiempo de uso en cada paciente, frecuencia de limpieza de las mangueras del circuito, hábitos de limpieza con las mangueras y agente desinfectante utilizado). En conclusión, este estudio demostró la presencia de *P. putida* y de otros géneros bacterianos; sin embargo, no se logró aislar *P. aeruginosa*. Los resultados están posiblemente relacionados a los protocolos de desinfección utilizados por los profesionales.

ABSTRACT

Bacteria of the *Pseudomonas* genus are Gram-negative bacilli, aerobic or facultative anaerobic and opportunistic pathogens from animals, humans and plants; with a worldwide distribution and generally from innerhospital origin. The aim of this study was to determine the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the hoses of inhalatory anesthesia circuits. During June to August 2015, microbiological analysis was carried out, by using one sample recovery from swabbing of the hoses' joint areas with the machine and the tracheal tube of 20 veterinary facilities in Quito. Stuart transportation swabs were used to transport the samples to the Microbiology LQ7 Laboratory in the Universidad de las Américas. *In vitro* studies were performed by using MacConkey, P (selective for *Pseudomonas* genus) and Müller-Hinton agar plates; oxidase and catalase biochemical testing was also applied to identify the bacteria.

In total, 15% samples recovered were identified as *Pseudomonas putida* and another 15% were bacteria not belonging to the *Pseudomonas* genus. All results were related to a survey applied previously in the same facilities, which determined 5 variables: use frequency of the inhaled anesthesia machine, time of use per patient, cleaning frequency of the circuits' hoses, cleaning habit and disinfectant used. In conclusion, this study proved the presence of *Pseudomonas putida* and bacteria belonging to other genres. However, *P. aeruginosa* was not isolated. The results could possibly be related to the disinfection protocols used by professionals.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 OBJETIVOS.....	6
1.2.1 Objetivo general.....	6
1.2.2 Objetivos específicos	6
1.3 HIPÓTESIS.....	7
2. MARCO REFERENCIAL.....	8
2.1 ENFERMEDADES NOSOCOMIALES	8
2.2 DESINFECCIÓN INTRAHOSPITALARIA	10
2.3 AGENTE ETIOLÓGICO: <i>Pseudomonas</i> spp.....	12
2.3.1 Taxonomía.....	12
2.3.2 Características	13
2.3.3 Patogénesis	14
2.3.4 Diagnóstico de laboratorio	17
2.3.4.1 Cultivo <i>in vitro</i>	17
2.3.4.2 Identificación de <i>Pseudomona</i> spp.....	19
2.4 PATOLOGÍA.....	22
2.4.1 Enfermedades generales.....	22
2.4.2 Enfermedad respiratoria	22
2.4.3 Resistencia a antimicrobianos	24
2.4.4 Tratamiento.....	25
2.4.5 Zoonosis	27
3. METODOLOGÍA	28
3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	28
3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO	29
3.2.1 Muestras	30
3.3 MATERIALES.....	31

3.3.1 Materiales para encuesta.....	31
3.3.2 Materiales para toma de muestras y transporte.....	32
3.3.3 Materiales de laboratorio	32
3.3.4 Equipos de Laboratorio.....	33
3.4 MÉTODOS.....	33
3.4.1 Encuesta.....	33
3.4.2 Preparación de medios de cultivo y entrenamiento en laboratorio ...	37
3.4.3 Toma y transporte de muestras	38
3.4.4 Procesamiento de muestras en el laboratorio.....	39
3.4.5 Identificación de <i>P. aeruginosa</i>	40
3.4.6 Antibiograma.....	42
3.4.7 Control de calidad	43
3.4.8 Identificación de <i>Pseudomonas putida</i>	43
3.4.9 Eliminación de desechos	44
3.4.10 Control de método de desinfección.....	44
3.4.11 Análisis estadístico	45
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1 RESULTADOS DE LA ENCUESTA.....	46
4.1.1 Frecuencia de uso del equipo de anestesia inhalatoria	46
4.1.2 Hábitos de limpieza de circuitos de anestesia inhalatoria.....	49
4.1.3 Manejo antimicrobiano en infecciones respiratorias	53
4.2 RESULTADOS DE CULTIVO <i>in vitro</i>.....	57
4.2.1 Resultados de muestras donde no se aisló ninguna bacteria en asociación a variables.....	61
4.2.2 Resultados positivos para <i>Pseudomonas putida</i> en asociación a las variables.....	66
4.2.3 Resultados positivos para presencia bacteriana, no perteneciente al género <i>Pseudomonas</i>	67
4.2.4 Comparación de resultados obtenidos de cultivo <i>in vitro</i>	68
4.3 Cálculos de significancia	69

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
5.1 Conclusiones.....	73
5.2 Recomendaciones	74
REFERENCIAS	76
ANEXOS	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Medidas asépticas por nivel de riesgo de infección.	11
Figura 2 Distribución de las clínicas y hospitales veterinarios muestreados. ...	29
Figura 3 Representación gráfica de frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria en 20 establecimientos veterinarios de Quito	47
Figura 4 Representación gráfica de rangos de tiempo de uso de la máquina de anestesia inhalatoria por paciente en 20 establecimientos veterinarios encuestados	48
Figura 5 Representación gráfica de hábito de limpieza de las mangueras de anestesia inhalatoria en 20 establecimientos encuestados	50
Figura 6 Representación gráfica de frecuencia de limpieza de mangueras por semana en 18 establecimientos veterinarios encuestados	51
Figura 7 Representación gráfica de agentes desinfectantes usados para limpieza de mangueras del circuito de anestesia inhalatoria en 20 establecimientos veterinarios encuestados	52
Figura 8 Tratamiento elegido por 20 profesionales encuestados para pacientes con enfermedad respiratoria menores a 18 meses	54
Figura 9 Tratamiento elegido por 20 profesionales encuestados para pacientes con enfermedad respiratoria entre 18 a 84 meses	55
Figura 10 Tratamiento elegido por 20 profesionales encuestados para pacientes con enfermedad respiratoria mayores a 84 meses	56
Figura 11 Representación gráfica de la frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria en establecimientos donde no se aisló ninguna bacteria	62
Figura 12 Representación gráfica de rangos de tiempo de uso de máquina de anestesia inhalatoria por paciente , expresados en minutos	63
Figura 13 Representación gráfica de frecuencia de limpieza de las Mangueras de anestesia inhalatoria en establecimientos donde no se aisló ninguna bacteria.....	64
Figura 14 Representación gráfica de agente/s desinfectante/s usados para limpieza de mangueras de anestesia inhalatoria en establecimientos donde no se aisló ninguna bacteria	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Relación entre bacteria e infección nosocomial en base a lista de bacterias frecuentemente relacionadas a infecciones nosocomiales en España.	4
Tabla 2 Factores asociados al aumento de riesgo de infecciones nosocomiales en veterinaria.....	9
Tabla 3 Desinfectantes más frecuentes de uso veterinario.	11
Tabla 4 Clasificación taxonómica de <i>Pseudomonas</i>	13
Tabla 5 Factores de virulencia <i>P. aeruginosa</i>	16
Tabla 6 Reacciones bioquímicas para la identificación de <i>P. aeruginosa</i>	20
Tabla 7 Características de <i>P. aeruginosa</i> para identificación presuntiva.	21
Tabla 8 Características metabólicas <i>P. aeruginosa</i> y <i>P. putida</i>	21
Tabla 9 Antimicrobianos eficaces contra <i>Pseudomonas</i> spp.	26
Tabla 10 Tratamiento antimicrobiano para caninos contra <i>Pseudomonas</i> spp	27
Tabla 11 Formato datos de identificación encuesta.	34
Tabla 12 Registro de resultados de antibiograma.	43
Tabla 13 Resultados del cultivo <i>in vitro</i> y pruebas bioquímicas realizadas en las 20 muestras recolectadas.....	59
Tabla 14 Significancia de frecuencia limpieza-uso con presencia bacteriana. .	70
Tabla 15 Significancia de agente desinfectante utilizado, con presencia bacteriana.....	71
Tabla 16 Significancia de tiempo de uso por paciente con presencia bacteriana.....	72

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

En la actualidad en Quito existen aproximadamente 120 clínicas y 6 hospitales veterinarios inscritos en Agrocalidad con Permiso Único de Funcionamiento hasta el año 2014, probando así que la profesión ha tenido un alto crecimiento en esta ciudad en los últimos años. El servicio veterinario se ha expandido, no solo hacia la medicina interna y tratamiento farmacológico, sino con una amplia gama de servicios de especialidad entre los cuales se incluye la cirugía; es por ello que gran cantidad de clínicas y hospitales, han adecuado sus instalaciones para proveer este servicio en quirófanos.

Las intervenciones quirúrgicas pueden ser programadas o urgentes (de emergencia), pudiendo clasificarse también según el objetivo perseguido. Según Álvarez (2014), estas pueden ser:

- Curativa: en casos de obstrucciones intestinales, mencionando un ejemplo.
- Paliativa: control de daños, emergencias.
- Diagnóstica: exploración de cavidades.
- Estética: eliminación de dedos supranumerarios, pezones o tumoraciones benignas.
- Experimental: para desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas.

La disponibilidad de instalaciones de quirófano, no aseguran la asepsia y esterilización durante las intervenciones quirúrgicas. A pesar del conocimiento de los profesionales preparados para brindar este servicio, existe la posibilidad de encontrar microorganismos que pueden producir enfermedades nosocomiales. Esto se puede evidenciar por la falta de protocolos y normas

para desinfección y esterilización del material de quirófano. Otro punto importante es la falta de conocimiento sobre este tema en médicos veterinarios, pasantes y estudiantes, que utilizan estos equipos, minimizando la importancia del uso de protocolos de asepsia.

Las enfermedades nosocomiales presentan un grave problema en la salud del paciente, no solo por la gran cantidad de microorganismos que pueden ingresar al paciente, sino por la presencia de genes de resistencia a antibióticos que pueden encontrarse en estas bacterias; generando complicaciones en la recuperación del paciente (Valenzuela, 2001).

Este tema se ha tratado ampliamente en medicina humana; sin embargo, en medicina veterinaria, no se han reportado estudios suficientes como para lograr un impacto positivo.

Dentro de las bacterias más frecuentemente relacionadas a infecciones nosocomiales en estudios de medicina humana según la Sociedad Española de Medicina Preventiva (2010, p.49) se encuentran:

- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus coagulasa negativo*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Staphylococcus aureus meticilina resistente*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Enterococcus faecalis*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Staphylococcus spp.*
- *Enterobacter aerogenes*
- *Enterobacter cloacae*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Proteus mirabilis*

- *Staphylococcus aureus*
- *Morganella morgagni*
- *Serratia marcescens*
- *Acinetobacter calcoaceticus*
- *Acinetobacter iwoffii*
- *Citrobacter koseri*
- *Enterococcus faecium*
- *Enterococcus* spp.
- *Prevotella* spp.
- *Providencia stuartii*
- *Staphylococcus pneumoniae* (neumococo)
- *Streptococcus grupo viridans*
- *Streptococcus mitis*

En base a la lista mencionada, los 10 patógenos asociados con mayor frecuencia a infecciones nosocomiales, detallados en la Tabla 1, según Gómez (2010) son:

Tabla 1 Relación entre bacteria e infección nosocomial en base a lista de bacterias frecuentemente relacionadas a infecciones nosocomiales en España.

Bacteria	Porcentaje de relación a infección nosocomial
<i>Escherichia coli</i>	16.5%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	10%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6.6%
<i>Enterococcus fecalis</i>	6.2 %
<i>Staphylococcus aureus</i> met. Resist.	5.1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.9%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.1%
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	3.6%
<i>Enterobacter cloacae</i>	3.2%
<i>Enterococcus faecium</i>	3.2%
<i>Proteus mirabilis</i>	3%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2.9%
Otros estafilococos	1.7%

Existe escasa información en relación al tema de infecciones intrahospitalarias en medicina veterinaria. Además de ello, la medicina humana presenta un amplio margen de información publicada, contrariamente a lo que sucede en medicina veterinaria, donde no se da la importancia necesaria y no se toma en cuenta el bienestar animal en la mayoría de los casos.

Esta situación ha permitido que se creen protocolos de desinfección disponibles en libros específicos dirigidos a la cirugía veterinaria, en base a estudios realizados en su mayoría por la medicina humana. Por otro lado, la investigación sobre este tema en Ecuador es casi nula y debe ser tomado en consideración que las condiciones de salubridad y desinfección de otros países donde se han realizado estudios pueden ser muy diferentes a las de nuestra zona.

La necesidad de los resultados de este estudio, parte de la probabilidad alta de que una infección post-cirugía sea causada por patógenos intrahospitalarios. Las causas de fiebre post-cirugía más comunes son: infección de lecho quirúrgico, dermatitis, neumonía nosocomial, infección de tracto urinario, infecciones asociadas a catéter intravascular, infecciones virales asociadas a transfusión, infección de cuerpo extraño (prótesis, ortopedia), osteomielitis, meningitis, endocarditis, entre otras (Bureo, 2008).

La identificación de los microorganismos (de entre los cuales vale mencionar que la *Pseudomona aeruginosa* presenta una alta probabilidad de crecimiento en materiales de quirófano de la ciudad de Quito), permitirá que los médicos veterinarios que ofrecen dicho servicio determinen la probabilidad de complicaciones por infecciones en sus pacientes. Así, se puede escoger los protocolos de desinfección adecuados, modificar los ya existentes y mejorar las condiciones sanitarias durante intervenciones quirúrgicas.

La *P. aeruginosa* es una bacteria que causa graves problemas de salud en pacientes con un sistema inmunitario deprimido. El contacto con esta bacteria es cotidiano, pero los pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas pueden mostrar menor resistencia a infecciones causadas por esta bacteria. El ingreso de la misma en el tracto respiratorio, puede significar el inicio de una infección que, por las características y factores de virulencia de la bacteria (entre los cuales se debe mencionar su capacidad de formar bio-películas, su resistencia natural a antibióticos beta-lactámicos y producción de proteínas tóxicas) pueden ser muy difíciles de controlar (Biblioweb, s.f.).

Esto genera la necesidad de controlar la presencia de esta bacteria en equipos, materiales e instalaciones en hospitales y clínicas veterinarias.

El estudio trata de identificar en los quirófanos analizados, la presencia de *Pseudomona aeruginosa*. Se centra en identificar la presencia de esta bacteria en el tubo de anestesia inhalatoria, el cual se encuentra en contacto con las vías respiratorias del paciente intervenido.

Los resultados son asociados a un protocolo de desinfección sugerido para evitar infecciones quirúrgicas por *Pseudomona aeruginosa*, además de realizar análisis de resistencia a antimicrobianos y recomendaciones de uso de los mismos.

Los resultados se dan a nivel local, en la ciudad de Quito, pudiendo relacionarlos a clínicas y hospitales de otras ciudades o regiones con características climáticas similares a la serranía ecuatoriana. El estudio permite, según sus resultados, la adaptación de un boletín técnico según la realidad local que permite recomendar mejoras en las condiciones de salubridad de los establecimientos veterinarios.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Identificar presencia de *Pseudomona aeruginosa* en el equipo de anestesia inhalatoria, en clínicas y hospitales veterinarios de la ciudad de Quito, mediante estudios microbiológicos.

1.2.2 Objetivos específicos

- Desarrollar un estudio microbiológico tendiente a identificar el potencial presencia de *Pseudomona aeruginosa* en la manguera del equipo de anestesia inhalatoria, mediante cultivo *in vitro* utilizando agares selectivos en el Laboratorio LQ7 de Laboratorios Biológicos de la UDLA, sede Queri.
- Determinar mediante antibiograma la sensibilidad a antimicrobianos (de los grupos: Beta lactámicos, Carbapenemes, Quinolonas y Sulfonamidas), de las colonias de *P. aeruginosa*, en caso de ser aisladas en el Laboratorio LQ7 de Laboratorios Biológicos de la UDLA, sede Queri.

- Elaborar un boletín técnico informando las normas de desinfección recomendadas a partir de los resultados encontrados y antimicrobianos de uso recomendado en caso de encontrar resistencia a los mismos.

1.3 HIPÓTESIS

Existe presencia de *Pseudomona aeruginosa* en los equipos de anestesia inhalatoria en clínicas y hospitales veterinarios de la ciudad de Quito.

CAPÍTULO II

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 ENFERMEDADES NOSOCOMIALES

Se conoce como enfermedades nosocomiales a aquellas adquiridas dentro del ambiente hospitalario con agente causal que se encontraba presente en los materiales, equipos o instalaciones del centro médico. La infección por este nuevo agente causal no debe haber estado presente previa internación en el establecimiento, ni en periodo de incubación. Las infecciones nosocomiales de mayor frecuencia son las de heridas quirúrgicas, vías urinarias y vías respiratorias inferiores (OMS, 2003).

El manejo de higiene y salubridad en hospitales y clínicas es un factor de vital importancia para asegurar el bienestar del paciente. Esto se evidencia no solamente en medicina humana, sino en veterinaria también. Los microorganismos existentes en ambiente hospitalario están expuestos a agentes antimicrobianos y en el caso de las bacterias, estas pueden adaptar su organismo a la supervivencia frente a estos desafíos.

Sumando a esto, los pacientes en servicio de hospitalización o quirófano, muchas veces pueden padecer enfermedades que afecten su sistema inmunitario, ocasionando una mayor predisposición a sufrir una infección al ser expuestos a diferentes agentes etiológicos. Además, posteriormente a una cirugía o en caso de padecer ya una enfermedad infecciosa, los pacientes son tratados con fármacos antimicrobianos que además de eliminar los microorganismos causantes de enfermedad, también eliminan a los saprofitos, dejando un nicho libre para infección por nuevas especies potencialmente patógenas.

Gran parte de las infecciones nosocomiales se dan por diseminación oportunista de microflora normal de los pacientes. En personas, la tasa de prevalencia de infecciones intrahospitalarias en personas, y pudiendo ser la misma en hospitales veterinarios, es de 5-10% de todos los pacientes

hospitalizados. Estas infecciones pueden no ser evidentes clínicamente hasta después de que el paciente haya sido dado de alta (Greene, 2008, p.1094).

Según Greene (2008, p.1095), los agentes causales oportunistas más relacionados a infecciones nosocomiales en veterinaria son:

- *Klebsiella* spp.
- *Serratia* spp.
- *Enterobacter cloacae*
- *Staphylococcus intermedius*
- *Acinetobacter baumannii/anitratus*
- *Enterococcus faecalis/faecium*
- *Citrobacter freundii*
- *Escherichia coli*

Siguiendo con esta idea, los factores asociados al aumento de riesgo de infecciones nosocomiales son los descritos en la Tabla 2.

Tabla 2 Factores asociados al aumento de riesgo de infecciones nosocomiales en veterinaria.

Exposición a agentes patógenos	Inmunosupresión	Tecnología nueva
Enterotomía (derrame de contenido intestinal)	Quimioterapia	Tratamiento antimicrobiano causando resistencia
Procedimientos dentales	Tratamiento con corticoides	Catéteres permanentes
Cateterización o endoscopia de vías aéreas	Irradiación	Implantes ortopédicos
Endoscopia urinaria o gastrointestinal retrógrada	Esplenectomía	
Transfusiones contaminadas		
Enfermedades inducidas por vacuna		

Tomado de: (Greene, 2008, p. 1095)

Otro factor de importancia en relación a los agentes causales de infecciones nosocomiales es la capacidad de formación de biopelículas. Las biopelículas son polímeros extracelulares que permiten la adherencia a las células del paciente, dan estructura y protección al patógeno lo cual los hace más resistentes a desinfección y tratamiento antimicrobiano. Existen dispositivos en los que frecuentemente se encuentra presencia de dichos biopelículas con carga bacteriana. Estos son: catéteres intravenosos, urinarios y de diálisis peritoneal, tubos endotraqueales y de alimentación, lentes de contacto, marcapasos cardíaco y prótesis articulares (Greene, 2008, p. 1096).

De la misma manera, Greene (2008, p. 1096) menciona que existen agentes infecciosos grampositivos y gramnegativos asociados a la aparición de biopelículas, entre los cuales se menciona a:

- *Streptococcus viridans*
- *Staphylococcus epidermidis/aureus*
- *Enterococcus faecalis*
- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus mirabilis*

2.2 DESINFECCIÓN INTRAHOSPITALARIA

En clínicas y hospitales veterinarios, la limpieza y desinfección difiere del manejo que se le da en hospitales de medicina humana. Estos no cuentan con departamentos de administración individual para diferentes áreas como sería esterilización de materiales, limpieza de instalaciones, lavandería, entre otras. En veterinaria el manejo de todas las áreas suele estar a cargo de una a dos personas dependiendo de la carga laboral del hospital o clínica.

La prevención de infecciones hospitalarias se puede dar por estricto control de las causas predisponentes, reduciendo el contacto de pacientes de alto riesgo (inmunocomprometidos, quirúrgicos y recién nacidos), separándolos de la población hospitalaria general y minimizando su estadía. Siguiendo con esta

idea, se pueden tomar medidas complementarias al colocar catéteres semipermanentes en único caso de ser necesario, minimizando los procedimientos quirúrgicos y estableciendo rutinas de desinfección (Greene, 2008, p.1101).

Riesgo de infección	Asepsia	Antisépticos	Manos	Ropa	Dispositivos*
1 Mínimo	Medio limpio	Ninguno	Lavado simple o desinfección por fricción	Ropa de calle	Limpieza o desinfección de nivel intermedio o bajo
2 Medio	Práctica aséptica	Productos antisépticos normales	Lavado higiénico o desinfección por fricción	Protección contra la sangre y los humores biológicos, según proceda	Desinfección para esterilización o de alto nivel
3 Alto	Práctica aséptica para cirugía	Productos importantes específicos	Lavado quirúrgico o desinfección quirúrgica por fricción	Ropa quirúrgica: bata, mascarilla, gorro y guantes estériles	Desinfección para esterilización o de alto nivel

* Todos los dispositivos introducidos en las cavidades estériles del cuerpo deben estar esterilizados.

Figura 1 Medidas asépticas por nivel de riesgo de infección.
Tomado de: OMS, 2003

Los desinfectantes recomendados para uso en veterinaria son los detallados en la Tabla 3:

Tabla 3 Desinfectantes más frecuentes de uso veterinario.

Sustancia	Uso	Nivel de eficacia
Alcohol (isopropilo 50-70%), etílico (70%)	Limpieza de manchas y preparación sitio de inyección	Buena
Hipoclorito	Limpieza de suelos y mostradores	Buena
Solución limpiadora yodada	Limpieza de suelos y mostradores de color oscuro	Buena
Glutaraldehído (solución alcalina al 2%)	Desinfección lentes e instrumental delicado	Buena (esteriliza)

Tomado de: (Fossum et al., 2009, p. 10)

Existen medidas de prevención relacionadas directamente a la infección nosocomial respiratoria, mencionadas por la Organización Mundial de la Salud que se detallan en la siguiente lista (OMS, 2003):

- Eficaces: Relacionada a uso de respirador. Desinfección del aparato, intubación y succión aséptica, limitación del periodo de uso del respirador, respiración mecánica no invasiva.
- No eficaces: Cambio del circuito del respirador cada 48-72 horas.
- Es importante mencionar que el enjuagar con agua después del uso del desinfectante puede volver a contaminar el material con bacterias, entre ellas, *P. aeruginosa*.

Además de esto, el equipo de anestesia y nebulizadores mantiene ciertas medidas especiales de prevención en los cuales se menciona el uso de agua con detergente para lavado de los mismos. Algunas partes de los equipos pueden ser sensibles al calor, como los circuitos de goma que deben ser desinfectados por inmersión en agua a 80°C por 15 minutos. Estas medidas no siempre son efectivas contra organismos gramnegativos más resistentes. Es recomendado que la desinfección de tubos traqueales (posible fuente de infección de *Pseudomonas*) sea inmediatamente después de ser utilizados, por inmersión en glutaraldehído alcalino por 10 minutos y luego ser enjuagado con agua estéril (Greene, 2008, p. 1105).

2.3 AGENTE ETIOLÓGICO: *Pseudomonas* spp.

2.3.1 Taxonomía

El género *Pseudomona* se dividía anteriormente en 5 grandes especies. Esta clasificación actualmente se ha dividido en varios géneros diferentes. En el grupo *Pseudomona*, la *Pseudomona aeruginosa* tiene la mayor importancia en medicina veterinaria, seguida por *Pseudomona fluorescens* (Markey, Leonard, Archambault, Cullinane y Maguire, 2013, p. 275).

Se han clasificado en grupos del I al V sobre su ADN y ARNr, además de características de cultivo comunes. El grupo I de la familia *Pseudomonadaceae* se subdivide en fluorescentes y no fluorescentes. El grupo fluorescente que

produce pigmentos incluye el género *Pseudomonas* incluyendo: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida* (Romero, 2007, p.875).

Como se menciona, el género *Pseudomona* ha transcurrido algunos cambios en los últimos años. En 1973 por estudios de hibridación de ARNr-ADN, se generó la división del género por los grupos antes detallados, que en la actualidad son considerados igualmente géneros según su secuenciación de ARNr 16S. La relación de guanina-citosina del ADN de *Pseudomonas* del grupo I, tiene un rango de 59.4-67.2%, siendo teniendo *P. aeruginosa* un valor de 67.25% (Vadillo, Píriz y Mateos, 2002, p. 261).

Según la última edición del Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática, la filiación taxonómica de *Pseudomonas* se detalla en la Tabla 4:

Tabla 4 Clasificación taxonómica de *Pseudomonas*.

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Pseudomonadales
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Pseudomonas</i>
Especie	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. fluorescens</i>

(Brenner, Krieg y Staley, 2005, pp. 323-325)

2.3.2 Características

Los miembros del género *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos, aerobios o anaerobios facultativos. Casi todas las especies poseen fimbrias y *pilis* y son móviles por un flagelo polar o un mechón formado usualmente por dos a tres flagelos. Algunas especies producen polisacáridos que forman una microcápsula. No forman esporas y es importante mencionar que no son fermentadoras de azúcares. El metabolismo de estas bacterias es oxidativo de tipo respiratorio y algunas cepas producen pigmentos. Casi todas las especies presentan crecimiento en agar MacConkey, siendo colonias lactosa negativas.

Algunas especies pueden desarrollarse a 4 ° C, aunque la mayoría son mesofílicas (Romero, 2007, p.875).

El tamaño de dichos bacilos es de aproximadamente 0.6 por 2 micras (Romero, 2007, p.881).

Su distribución es mundial y pueden encontrarse en el ambiente de agua, suelo, plantas, frutas y vegetales. Son patógenos oportunistas de animales, humanos y plantas. Tienen preferencia por ambientes acuosos dando como resultado una problemática en hospitales. En este caso, una fuente de infección de *P. aeruginosa*, puede ser: desinfectantes, ungüentos, jabones, gotas para ojos, fluidos endovenosos y equipos. Puede ser encontrada frecuentemente en sifones de lavabos y aereadores (Markey et al., 2013, p. 275).

Esta bacteria presenta requerimientos nutricionales mínimos, prosperando en ambientes húmedos en hospitales veterinarios como humanos y puede recuperarse del ambiente en quirófanos y materiales como mangueras de aparatos de anestesia, respiradores automáticos y equipos de diálisis, pudiendo crecer en soluciones y jabones desinfectantes. Estas características hacen posible la colonización en tracto respiratorio, digestivo y heridas, sobretodo en pacientes comprometidos o con tratamiento antibiótico prolongado (Gentilini, 2007, p. 238).

2.3.3 Patogénesis

El origen de infección por bacterias del género *Pseudomona* es generalmente intrahospitalario, a pesar de presentar crecimiento en lugares tan diversos como: suelo, aguas negras, agua almacenada, intestino de mamíferos, como parásitos de plantas, equipos médicos, líquidos hospitalarios (incluso amonio cuaternario y soluciones de jabón), catéteres y gotas oftálmicas (Romero. 2007, p. 879).

Los pacientes con inmunidad deprimida, quemaduras, alteraciones metabólicas como diabetes, neoplasias de carácter maligno y los cuales han sido sometidos

a instrumentación o cateterismo presentan una población sensible para infección por estas bacterias (Romero, 2007, p. 875).

Al ser la *P. aeruginosa* una bacteria resistente a varios antibióticos, esta puede producir infección en animales bajo tratamiento antibiótico o inmunocomprometidos. Puede ser encontrada en piel y mucosas, sobretodo del tracto gastrointestinal. Los factores predisponentes para infección pueden ser trauma (puertas de entrada en piel), inmunodeficiencia y cambios en la flora normal a causa de antibioterapia (Markey et al., 2013, p. 275).

La colonización de *Pseudomona* spp. se da cuando la capa de fibronectina que cubre las células en el hospedador se rompe por infección o trauma mecánico. Los *pilis* y enzima S promueve la adherencia a células epiteliales, además de la sustancia mucosa extracelular antifagocítica (Greene, 2008, pp. 357-359).

La Tabla 5 muestra los factores de virulencia de importancia de *P. aeruginosa*.

Tabla 5 Factores de virulencia *P. aeruginosa*.

Determinante	Función
Exotoxina A	Citotóxica, invasión de tejido y daño celular, acción inmunosupresora.
Flagelos	Movilidad y adherencia a mucina
Elastasa	Daño a tejido de pulmón y vasos sanguíneos.
Proteasa alcalina	Daño de tejido
Fosfolipasa C	Daño de tejido, estimulación de mediadores de inflamación
Rhamnolípido	Daño a membrana celular del hospedador y afecta clearance mucociliar.
Sistema de secreción tipo III	Daño a tejido de hospedador, citotóxico, relacionado al proceso de invasión
Biofilm-alginado	Protección de fagocitosis, adhesina, resistencia antimicrobial.
LPS	Adherencia a células epiteliales e invasión, resistencia a fagocitosis, resistencia a suero y producción de citoquinas pro-inflamatorias.
Pili	Adherencia a células epiteliales y mucina

Tomado de: (Markey et al., 2013, p. 278)

El sistema de secreción tipo III produce proteínas bacterianas que actúan como una jeringa, inyectando citotoxinas en el citoplasma de células del hospedador, produciendo daño epitelial e inhibición de células fagocitarias. Producen sustancias extracelulares como exotoxina proteína A, proteasas, exoenzimas de sistema de secreción tipo III, rhamnolípidos y fosfolipasa C. Los sideróforos promueven su supervivencia en condiciones pobres en Fe. La Píocianina

puede cambiar el color del pus en el hospedador. Produce una sustancia mucoide de exopolisacárido que forma un gel viscoso alrededor de la bacteria creando biofilms, que ayudan en la adherencia y la protege de fagocitosis (Markey et al., 2013, p. 276).

2.3.4 Diagnóstico de laboratorio

2.3.4.1 Cultivo *in vitro*

Al encontrarse en la clínica con pacientes sufriendo enfermedades infecciosas, el procedimiento común dicta que el agente causal sea identificado. En este caso, al tratarse de sospecha de infección bacteriana, el cultivo y aislamiento es el método de elección. Existen distintos tipos de medio de cultivo, una primera clasificación los distingue entre medios líquidos y sólidos. Los medios sólidos llevan dentro de su composición agar como medio solidificante (Gómez y Guida, 2010, p. 86).

Una siguiente clasificación los divide según su composición en medios simples (componentes necesarios para crecimiento de microorganismos sin requerimientos especiales como azúcar, nitrato, proteína, entre otras) o complejos (gran variedad de nutrientes que permiten crecimiento de la mayoría de microorganismos, conociendo la cantidad de cada componente, pero no su composición exacta) (Gómez y Guida, 2010, p. 87).

Se pueden encontrar, de igual manera, medios selectivos. Estos cuentan con sustancias que permiten únicamente el crecimiento de una especie o grupo de especies de microorganismos. Dentro de este grupo se encuentra el medio MacConkey y P. Es de importancia mencionar que el agar MacConkey también es considerado un medio diferencial, ya que permite la distinción entre microorganismos según su capacidad de utilizar lactosa. Existen también medios enriquecidos, en los cuales hay un factor indispensable para el crecimiento de ciertos organismos (Gómez y Guida, 2010, p. 87).

A partir de la selección de los medios de cultivo necesarios o adecuados para la identificación del microorganismo sospechado, se realizan pruebas bioquímicas que evidencian la presencia de enzimas características de la fisiología del microorganismo (Gómez y Guida, 2010, pp. 87-88).

La sensibilidad antibiótica es un paso importante en el proceso de identificación del agente causal de la infección, ya que determinará la eficacia del tratamiento instaurado en el paciente. Los antimicrobianos pueden considerarse como antimicrobicidas (matan al microorganismo) o antimicrobiostáticos (detienen el crecimiento). El antibiograma es la técnica de determinación de sensibilidad más utilizada, consistiendo de la CMI (concentración mínima inhibitoria) a la cual se impide la proliferación del microorganismo. Se miden los halos de inhibición de crecimiento en el medio de cultivo al pasar 24 horas en incubación, siendo que el halo más grande determina el antimicrobiano de mayor eficacia. En caso de existir presencia de colonias dentro del halo, se puede determinar el resultado como contaminación, cultivo mixto o aparición de resistencia al agente antimicrobiano (Gómez y Guida, 2010, p. 88).

Se deben utilizar medios de transporte que aseguren la supervivencia del organismo, sin demasiado crecimiento. Los medios con hisopos deben estar hechos de materiales no inhibitorios y transportarse en recipientes estériles, dentro de una cámara de transporte humedecida o dentro de un medio de transporte. Estos cuentan con una formulación no nutritiva y cuentan con un amortiguador que preserva viabilidad de microorganismos exigentes, minimizando a su vez la multiplicación exagerada de bacterias de crecimiento rápido (Greene, 2008, pp. 301-302).

La interpretación de resultados debe venir relacionada al análisis clínico del paciente, al sitio de recolección (presencia de flora normal), algún tipo de contaminante durante la recolección, transporte o manejo y la diferenciación cuantitativa de los agentes encontrados (Greene, 2008, p. 303).

2.3.4.2 Identificación de *Pseudomona* spp.

Pseudomona spp. puede ser manejada en laboratorios con bioseguridad de nivel 2. Las tomas de muestra y el transporte estándar son suficientes para el manejo de este género, en relación a la zona de infección. La microscopía directa no es de importancia diagnóstica, ya que no tiene características distintivas (Markey et al., 2013, p. 278).

Las muestras aceptadas para identificación en laboratorio son: orina, exudados, pus y raspados de superficie de tejidos infectados. Partiendo de esto, su aislamiento y posterior identificación se da sembrando la muestra en medios simples durante 24-48 horas a 35°C en condiciones de aerobiosis. Su desarrollo se evidencia por colonias translúcidas, con bordes ondulados. La mayoría de cepas produce piocianina que aparece de color azul verdoso facilitando su identificación. En agar sangre produce β -hemólisis y los cultivos presentan un olor característico, comparado con uvas (Gentilini, 2007, p. 237). Los bacilos son: oxidasa positiva, licuan gelatina, peptonizan leche tornasol, utilizan citrato, reducen nitrato y no producen indol. La identificación de otras especies requiere algunas pruebas fisiológicas además de lo mencionado anteriormente (Gentilini, 2007, p. 237).

Se pueden observar y diferenciar colonias grandes de 3-4 mm, planas con bordes serrados, color azul verdoso y olor frutal característico. Puede existir variación en las colonias, pudiendo ser estas (Markey et al., 2013, pp. 279-280):

- Forma S: suaves y brillantes
- Forma R: pequeñas, secas y granulares
- Forma M: mucoides (forma atípica)

Algunas colonias pueden tener un brillo metálico distintivo. En agar MacConkey se producen colonias grandes y pálidas con pigmento azul verdoso superpuesto.

P. aeruginosa puede producir 4 pigmentos (Markey et al., 2013, pp. 279-280):

- Piocianina: azul
- Pioverdina: amarillo verdoso o amarillo café
- Piorubina: rojo
- Piomelanina: café oscuro

El agar P aumenta la producción de piocianina, característico de *P. aeruginosa*. La Pioverdina tiene propiedades fluorescentes. Algunas colonias no producen pigmento y son mucoides, estas pueden presentar características bioquímicas atípicas, dificultando su identificación (Markey et al., 2013, pp. 279-280).

La Tabla 6 resume algunas reacciones bioquímicas de identificación para *P. aeruginosa*.

Tabla 6 Reacciones bioquímicas para la identificación de *P. aeruginosa*.

Pruebas	Resultado
Producción Pioverdina	+
Oxidasa	+
Crecimiento a 42°C	+
Crecimiento a 5°C	-
Ureasa	+
Crecimiento en MacConkey	+
Arginina dihidrolasa	+
Oxidación de:	
Glucosa	+
Lactosa	-
Maltosa	-

Tomado de: (Markey et al., 2013, p. 282)

De acuerdo a esto, la Tabla 7 muestra características que direccionan a una identificación presuntiva de la bacteria en laboratorio:

Tabla 7 Características de *P. aeruginosa* para identificación presuntiva.

Pruebas	Resultado
Glucosa fermentada	-
Crecimiento a 42°C	+
Movilidad	+
Reducción de nitrato	+
Olor	Frutal
Pigmento	+ (piocianina, pioverdina, piorubina y piomelanina)
Hemólisis	+
Ácido de: maltosa, manitol	-, variable

Tomado de: (Markey et al., 2013, p. 281)

Aunque *Pseudomonas aeruginosa* es la bacteria con mayor importancia clínica, es importante diferenciarla en el diagnóstico de otras especies de *Pseudomonas*. En la Tabla 8, se resumen características metabólicas diferenciales entre *P. aeruginosa* y *P. putida*:

Tabla 8 Características metabólicas *P. aeruginosa* y *P. putida*.

Características Metabólicas	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>
Crecimiento a 4°C	-	+ (depende de la cepa)
Gelatinasa	+	-
Reducción de nitratos	+	-
Producción piocianina	+	-
Producción fluoresceína	+	-

Nota: + positivo; - negativo (Gentilini, 2007, p. 236)

Además de la desarrollada metodología, *Pseudomonas* puede ser identificada por tipificación serológica (no es considerado un método confiable), sensibilidad a bacteriófagos, patrones de sensibilidad a antibióticos y producción de piocianinas. Técnicas moleculares permiten la clasificación de cepas con mayor sensibilidad y especificidad (Gentilini, 2007, p. 237).

2.4 PATOLOGÍA

2.4.1 Enfermedades generales

El género *Pseudomona* es causante de diversas manifestaciones clínicas de la infección al poder colonizar prácticamente cualquier tejido u órgano. *P. aeruginosa* es causante de: infecciones urinarias nosocomiales, meningitis, septicemia, bacteriemia, ectima gangrenoso, enterocolitis, infecciones de heridas y quemaduras, neumonía primaria, neumonía necrotizante, infecciones pulmonares crónicas, osteomielitis, otitis externa y media, endocarditis, infecciones oculares e infecciones de piel y tejidos blandos (Romero, 2007, pp. 876-877).

En el caso de otras especies de *Pseudomona* como *P. putida*, las enfermedades han sido menos frecuentes y se puede presentar como: bacteriemia, infecciones urinarias, de heridas y vías respiratorias, siendo importante mencionar que en caso de ser aisladas se debe cuestionar su importancia clínica (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009, p. 342).

P. aeruginosa causa diferentes enfermedades en varios hospedadores de diferentes especies. En el caso de animales domésticos, especialmente las mascotas, pueden ocasionar enfermedades como: otitis externa, infecciones de tracto urinario, úlcera corneal, neumonía, endocarditis, pioderma profunda y puede estar presente en casos de piometra, además de ser potencial causante de infección de heridas en todas las especies domésticas (Markey et al., p. 277).

2.4.2 Enfermedad respiratoria

Las infecciones respiratorias intrahospitalarias están relacionadas al uso de procedimientos invasivos como: traqueostomía, endoscopia por fibra óptica, cateterización transtraqueal, nebulización o intubación endotraqueal. Se dan al traspasar los mecanismos anatómicos de defensa del sistema respiratorio que

evitan que los agentes patógenos colonicen las vías aéreas inferiores, sobretodo de bacterias gramnegativas. Se puede considerar como un factor de riesgo para neumonía nosocomial a la anestesia inhalatoria, nebulización, humidificación y soporte ventilatorio, por contaminación cruzada (Greene, 2008, p. 1100).

P. aeruginosa es uno de los principales microorganismos causales de neumonía nosocomial en medicina humana y la causa más común de neumonía asociada a uso de ventilador. Es considerada una enfermedad de apareamiento tardío. La vía de entrada en caso de ventilación mecánica es por aspiración de secreciones en el circuito de ventilación. Esta entrada puede infestar primero la orofaringe o pasar directamente a vías respiratorias inferiores. Los factores de virulencia mencionados anteriormente facilitan la colonización del epitelio respiratorio y la apoptosis de las células del hospedador con destrucción del parénquima pulmonar, además de reclutar células inflamatorias y mediadores inflamatorios que potencian el daño (Vallés y Mariscal, 2005, pp. 30-32).

Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad son las de una neumonía necrosante con probable recidiva. Son usualmente difusas y bilaterales con campos nodulares en las porciones inferiores. Puede producir abscesos y en caso de que el paciente se cure, la estructura pulmonar no recupera su integridad, sino que tendrá porciones fibróticas (Vallés y Mariscal, 2005, pp. 33-34).

Pseudomonas spp. se encuentra entre la lista de bacterias aisladas de hisopados tonsilares y faríngeos en perros clínicamente sanos, aunque no con frecuencia. En el caso de *P. aeruginosa*, esta se ha aislado en hisopados nasales de pacientes clínicamente sanos (Greene, 2008, p. 950).

La neumonía bacteriana en caninos es más común que en felinos y se considera que la mayoría de agentes aislados en perros que presentan

neumonía son invasores oportunistas, entre los cuales comúnmente se encuentra en aspirados traqueales a: estafilococos, estreptococos, *E.coli*, *P. multocida*, *Pseudomonas* spp. y *K. pneumoniae*. Es importante mencionar que puede darse casos de infecciones mixtas por dos o más microorganismos (Greene, 2008, p. 955).

Los hallazgos clínicos de una neumonía bacteriana incluyen como signos clínicos: tos (en la mayoría de los casos húmeda, con secreción), disnea, fiebre variable, pérdida de peso, deshidratación y secreción nasal serosa o mucopurulenta. Los sonidos pulmonares son anormales con aumento de sonidos bronquiales, crepitaciones y sibilancias. De igual manera se puede encontrar en el examen clínico taquipnea, debilidad e intolerancia al ejercicio (Greene, 2008, p. 957).

2.4.3 Resistencia a antimicrobianos

La bacteria *P. aeruginosa* es resistente a varios antimicrobianos, entre los cuales se encuentran: penicilina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, tetraciclinas, macrólidos, rifampicina, cloranfenicol, sulfatrimetoprim y cefalosporinas de amplio espectro. Esto puede deberse a varias adecuaciones de la bacteria. La resistencia a betalactámicos, carbapenems, aminoglicósidos y fluorquinolonas puede atribuirse a mutación de genes o porinas codificadoras de genes, proteínas ligadoras de penicilina, bombas de eliminación y betalactamasas codificadas de cromosoma. Las bombas de eliminación juegan un papel importante no sólo en la resistencia a antibióticos, sino también en la resistencia a desinfectantes, detergentes, inhibidores y solventes orgánicos (Markey, et al., 2013, pp. 283-284).

Los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* pueden dividirse en 3 (Gentilini, 2007, p. 237):

- Intrínseca: impermeabilidad de membrana externa, permeabilidad activa de membrana citoplasmática y β -lactamasas cromosómicas.

- Mutacional: impermeabilidad y eflujo en β -lactámicos, desrepresión de β -lactamasas cromosómicas, DNA girasa (eflujo en quinolonas)
- Adquirida: enzimas plasmídicas inactivantes de aminoglucósidos, β -lactamasas plasmídicas transferibles.

2.4.4 Tratamiento

Al ser bacterias gramnegativas, son naturalmente resistentes a algunos antimicrobianos, así como capaces de formar nuevas resistencias por varios métodos. Es por ello que se recomienda la realización de un antibiograma siempre en sospecha de *Pseudomona* spp. El uso de gentamicina, amikacina, tobramicina, carbenicilina, ticarcilina, ceftazidima (cefalosporina antipseudomona, fármaco de tercera generación) o ciprofloxacina (posible resistencia a enrofloxacina) es el tratamiento empírico inicial hasta conocer el antibiograma específico del caso a tratar. Carbapenemas como imipenem y meropenem son de gran eficacia y no tienden a tener resistencia cruzada con otras β -lactamasas (Greene, 2008, p. 365).

La Tabla 9 presenta los antimicrobianos eficaces contra infecciones por *Pseudomonas* spp según Greene (2008, p.366)

Tabla 9 Antimicrobianos eficaces contra *Pseudomona* spp.

Grupo	Fármaco
β-lactamas	Ticarcilina
	Carbenicilina
	Piperacilina
	Azlocilina
	Aztreonam
	Imipenem
	Meropenem
Cefalosporinas	Ceftazidima
	Cefoperazona
	Cefsulodina
Quinolonas	Ciprofloxacina
	Clinafloxacina
	Trovafloxacina
Aminoglucósidos	Gentamicina
	Tobramicina
	Netilmicina
	Amikacina
	Isepamicina

Siguiendo con esta descripción, en la Tabla 10 se describe algunos de estos fármacos con la dosis recomendada, dosis diarias recomendadas y porcentaje de susceptibilidad contra *Pseudomonas*.

Tabla 10 Tratamiento antimicrobiano para caninos contra *Pseudomonas* spp.

Fármaco	Dosis mg/kg	Vía administración	Intervalo de horas	Susceptibilidad
Amikacina	5-10	IV, IM, SC	8-12	97 %
Carbenicilina	20-30	VO	8	Sobre 80-90 %
Ceftazidima	25	IM, SC	8-12	Sobre 80-90%
Ciprofloxacina	10-15	VO	12	Sobre 80-90%
Imipenem-cilastatina	2-5	IV	8	Sobre 80-90%
Ticarcilina	40-75	IV, IM	6-8	Sobre 80-90%
Ticarcilina-clavulanato	30-50	IV	6-8	92%
Tobramicina	1	IV, IM, SC	8	Sobre 80-90%

Tomado de: (Greene, 2008, p. 365)

2.4.5 Zoonosis

Se conocen aproximadamente 25 microorganismos causantes de enfermedades zoonóticas. De estos, 30-40 involucran a mascotas y de este número, solo unos pocos han sido documentados, con mayor frecuencia en personas que padecen de SIDA o que se encuentra inmunodeprimidas. Entre estos no se menciona a bacterias del género *Pseudomonas* (Greene, 2008, p. 1155).

Pseudomonas aeruginosa presenta un grave problema en relación a infecciones intrahospitalarias en humanos, siendo uno de los principales agentes etiológicos y empeorando la situación por su multiresistencia a antimicrobianos. A pesar de esto, el contagio de animales a personas es poco frecuente. Otras especies relacionadas a *Pseudomonas*, como *Burkholderia mallei* han sido reportadas esporádicamente como agentes de contagio de animales a humanos. Esta situación se ha dado en trabajadores de laboratorio o en contacto directo con animales domésticos infectados (Markey, et al., 2013, p. 276)

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El estudio se realizó en 15 clínicas y 5 hospitales veterinarios de la ciudad de Quito, cantón Quito y cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha. Quito se encuentra en la serranía ecuatoriana, a una altura aproximada de 2800 msnm. El Distrito Metropolitano de Quito tiene una extensión de 4183 km², incluyendo sus parroquias rurales y urbanas y sus coordenadas son: latitud: 0°S longitud: 78°W (IGM, 2015).

El estudio se realizó en 20 establecimientos veterinarios seleccionados aleatoriamente de la lista que se detalla en el Anexo 1 y localizadas con puntos en el mapa del Distrito Metropolitano de Quito en la Figura 2.

En el cantón Quito se realizó el muestreo de 14 clínicas veterinarias y 4 hospitales veterinarios. En el cantón Rumiñahui se realizó muestreo de 2 hospitales, cumpliendo así con el tamaño de muestra requerido de 20 establecimientos veterinarios.

La distribución de establecimientos situados dentro de la ciudad de Quito y los establecimientos situados en los Valles de: Cumbayá, Tumbaco y Los Chillos se demuestran en la Figura 2 como se mencionó anteriormente.

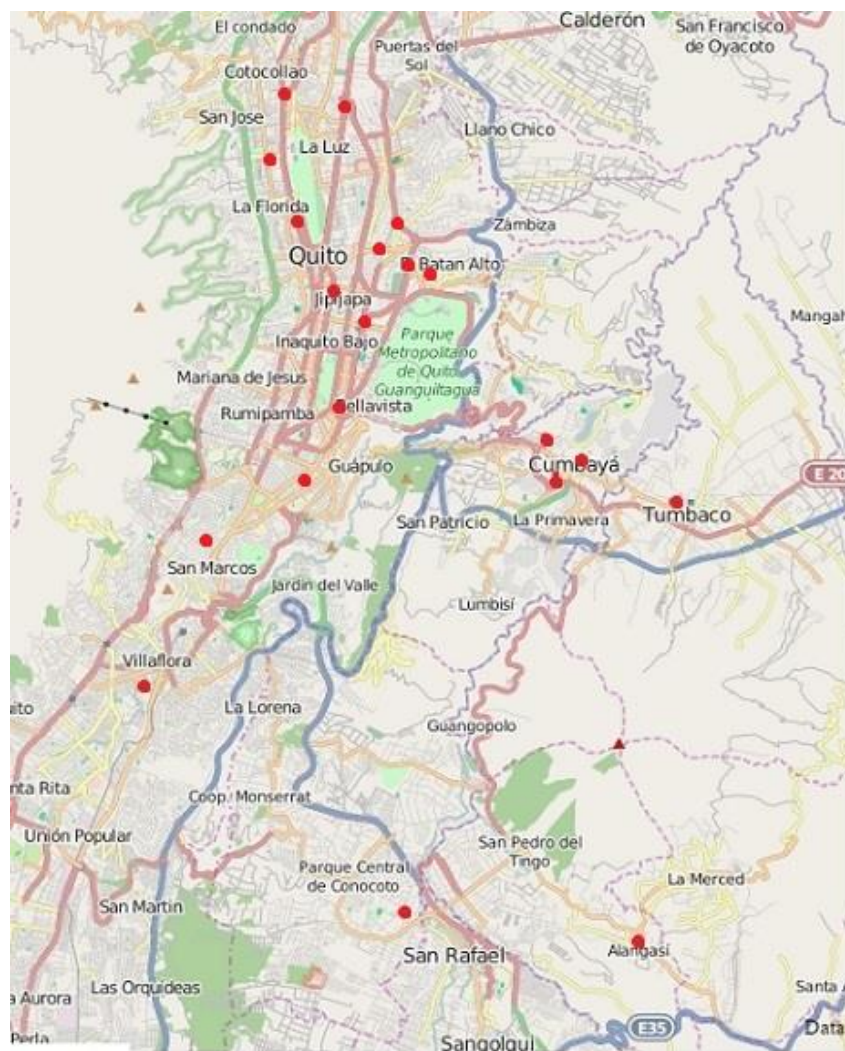


Figura 2 Distribución de las clínicas y hospitales veterinarios muestreados.

Tomado de: Visualizador IGM, 2015

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio transversal que se basa en la identificación de un sólo muestreo, tomado de la manguera de anestesia del circuito en el equipo de anestesia inhalatoria en cada clínica u hospital.

Según información obtenida del Control provincial de Pichincha de Agrocalidad, en el año 2014 en Quito, 126 clínicas y hospitales veterinarios obtuvieron el

Permiso Único de Funcionamiento, de los cuales solamente 28 brindan servicio de anestesia inhalatoria. Con estos datos, el cálculo de la muestra usando fórmula para cálculo de muestra de poblaciones finitas, es el siguiente:

$$n = \frac{N \cdot Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{(d^2 \cdot N - 1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q} \quad (\text{Ecuación 1})$$

N = Total de la población

Z_{α} = 1.96 al cuadrado (si la seguridad es del 95%)

p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)

q = 1 - p (en este caso 1 - 0.05 = 0.95)

d = precisión (5%) (Herrera, 2011).

Entonces:

(Ecuación 2)

$$n = \frac{28 \cdot (1.96)^2 \cdot (0.05 \cdot 0.95)}{(0.05^2) \cdot (28 - 1) + (1.96^2) \cdot 0.05 \cdot 0.95}$$

n = 20.4 equivalente a 20 (clínicas y hospitales con servicio de anestesia inhalatoria)

3.2.1 Muestras

Las clínicas y hospitales donde se obtuvieron las muestras deben ofrecer servicio de cirugía, contar con instalaciones de quirófano y ofrecer servicio de anestesia inhalatoria como requisito indispensablemente. Se seleccionaron para el muestreo en base a la lista en Excel de clínicas y hospitales registradas en Agrocalidad, que tienen el servicio de anestesia inhalatoria, utilizando una tabla de números aleatorios (número que fue utilizado como código del establecimiento durante el resto del estudio).

La investigación se ejecutó mediante análisis microbiológico de las muestras de hisopados para la identificación de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, a través de la utilización de: medio de transporte Stuart, medios de cultivo; MacConkey, P (medio selectivo para identificación de *Pseudomonas aeruginosa*), nutritivo y Müller-Hinton para antibiograma (el cual incluía 5

discos antimicrobianos: Imipenem, Ciprofloxacina, Sulfatrimetoprim, Cefazolina y Amoxicilina-Clavulanato); además de pruebas bioquímicas que incluyeron: reacción en discos de oxidasa y reacción a catalasa con peróxido de hidrógeno.

Además de este procedimiento, se realizaron pruebas de calidad de los medios de cultivo y materiales utilizados con colonias ATCC de *P. aeruginosa* confirmada, siguiendo el mismo protocolo de las muestras obtenidas en los establecimientos.

Siguiendo con esta idea, previa siembra en medio de cultivo Müller-Hinton se realizó prueba de McFarland con las colonias obtenidas con el fin de asegurar la mayor exactitud en el resultado del antibiograma.

El estudio tuvo una duración de 3 meses en ejecutarse (realización de encuestas, preparación de medios de cultivo y entrenamiento en laboratorio, toma de muestras, incubación e interpretación de resultados en laboratorio). A partir de este tiempo se analizaron los datos obtenidos y se realizó la redacción teórica del estudio durante 2 meses.

Todos los procedimientos de aislamiento e identificación de *P. aeruginosa* se realizaron en el Laboratorio LQ7 de Microbiología de la Universidad de las Américas, sede Queri. La muestra de *P. putida* fue enviada para aislamiento e identificación al Laboratorio Biológico del Hospital Baca Ortiz de la Ciudad de Quito.

3.3 MATERIALES

3.3.1 Materiales para encuesta

- Encuesta (Anexo 2)

3.3.2 Materiales para toma de muestras y transporte

- Hisopos con medio de transporte Stuart
- Tubo de máquina de anestesia
- Guantes de examinación de látex
- Mascarilla
- Termo para transporte de muestras.
- Gel refrigerante
- Frasco de vidrio vacío (evitar contacto de muestras con gel)
- Hojas de registro
- Encuestas respondidas
- Marcador indeleble
- Esfero
- Cartas de confidencialidad y autorización firmadas

3.3.3 Materiales de laboratorio

- 2 fundas de 25 unidades de cajas mono Petri descartables de 90 X 15 mm
- 3 fundas de 10 unidades de cajas Petri descartables de 150 X 15 mm
- 500 g de medio de cultivo MacConkey
- 500 g de medio de cultivo P selectivo (*Pseudomonas* spp.)
- 500 g de medio de cultivo nutriente
- 500 g de medio de cultivo Müller-Hinton
- Agua destilada estéril
- 20 ml de Glicerol
- Matraz con tapa rosca de 1000ml
- Probeta de 250 ml
- Balanza Shimadzu
- Mezclador de vidrio
- Platos para pesar

- Rejilla
- Tubos de ensayo 15 cm con tapa rosca
- Asa de estriación
- Mechero Bunsen
- Fósforos
- Discos de oxidasa marca Becton, Dickinson and Company
- Hisopos de madera estériles
- Discos antibiograma marca Becton, Dickinson and Company: Ciprofloxacina 5 ug, Amoxicilina-Clavulanato 20/10 ug , Sulfamethoxazole 23.75 ug- Trimethoprim 1.25ug, Cefazolina 30 ug, Imipenem 10 ug
- Peróxido de hidrógeno
- Portaobjetos
- Marcador negro permanente
- Cinta *Masking*
- IPad 2 (fotografías)
- Tabla de resultados

3.3.4 Equipos de Laboratorio

- Incubadora Incucell
- Autoclave Tuttmauer
- Cámara de flujo laminar 1300 SERIES A2
- Turbidímetro Oxoid

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Encuesta

Las encuestas (ver Anexo 2) fueron tomadas en el periodo del 12 al 29 de junio del 2015. La información para el estudio fue tomada después de tener la autorización del responsable de cada clínica u hospital, y luego de la

aplicación de la encuesta se tomaron las muestras. Después de ser aprobada la aplicación de la encuesta y el muestreo en cada clínica u hospital, se realizaron las cartas de autorización y confidencialidad, que se detallan en el Anexo 3 y 4.

La encuesta contiene 3 partes (ver Anexo 2)

- Primera parte: Datos del establecimiento y persona a cargo.
- Segunda parte: Preguntas en relación a las variables a ser comparadas con los resultados.
- Tercera parte: Preguntas en relación al uso de antimicrobianos con el fin de determinar los discos utilizados en el antibiograma.

Primera parte: Datos de identificación

Tabla 11 Formato datos de identificación encuesta.

Nombre Establecimiento	Propietario/Director Médico
<i>Información necesaria para redacción de cartas (autorización y confidencialidad)</i>	<i>Información necesaria para redacción de cartas (autorización y confidencialidad)</i>
Código Establecimiento	<i>Numeración dada al establecimiento a manera de identificación a usar para todo análisis posterior del estudio</i>

Segunda Parte

1. ¿Cuál es aproximadamente la frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria en su establecimiento?

Pregunta abierta que podía ser respondida de acuerdo a la afluencia de pacientes de cada establecimiento, por día o semana.

2. ¿Por cuánto tiempo aproximadamente se utiliza la máquina de anestesia en cada paciente?

Pregunta abierta que podría ser respondida de acuerdo al tipo de cirugías que se realizan en los establecimientos, además de la destreza del personal de cirugía, en rango de tiempo expresado en minutos

3. La limpieza de la manguera del equipo de anestesia inhalatoria se realiza:
 - Inmediatamente después de la intervención de cada paciente
 - Al final del día de trabajo
 - Antes de la intervención en cada paciente
 - Otro

Pregunta a ser respondida con alguna de las opciones presentadas

4. ¿Cuántas veces a la semana aproximadamente realiza limpieza de la manguera del equipo de anestesia?

Pregunta abierta relacionada a las preguntas 1 y 3, que debería coincidir con la respuesta dada respecto al hábito de limpieza manejado.

5. ¿Con qué desinfecta las mangueras del equipo de anestesia?
 - Clorhexidina
 - Detergente
 - Amonio
 - Alcohol
 - Yodo
 - Combinación (Cuál)
 - Otro (Cuál)

Pregunta a ser respondida con una sola opción de todas las presentadas

Tercera parte

Preguntas cerradas que presentan las opciones de tratamiento antimicrobiano más frecuentemente usado en enfermedades respiratorias, además del tratamiento recomendado para infecciones por Pseudomonas y una opción diferente que necesita de la especificación del encuestado. La diferenciación por edad se da, debido a los efectos adversos de algunos antimicrobianos de acuerdo a la edad del canino.

6. Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos menores a 18 meses
 - Amoxicilina + Ácido Clavulánico
 - Enrofloxacin
 - Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
 - Sulfatrimetoprim
 - Cefalosporinas
 - Otro (Cuál)

7. Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos mayores a 18 meses y menores a 84 meses (7 años)
 - Amoxicilina + Ácido Clavulánico
 - Enrofloxacin
 - Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
 - Sulfatrimetoprim
 - Cefalosporinas
 - Otro (Cuál)

8. Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos mayores a 84 meses (7 años)
 - Amoxicilina + Ácido Clavulánico

- Enrofloxacin
- Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
- Sulfatrimetoprim
- Cefalosporinas
- Otro (Cuál)

OBSERVACIONES

Espacio añadido para registrar cualquier comentario adicional del encuestado, observaciones determinadas durante el momento de la encuesta o el muestreo, que puedan resultar de importancia para la relación de las variables con los resultados.

Se debe mencionar también que para evitar alteraciones en los resultados, al finalizar la encuesta se indicó la importancia de que la limpieza de la manguera no sea realizada el día del muestreo, sino que siga su manejo de desinfección normal, preferentemente hasta la noche anterior.

3.4.2 Preparación de medios de cultivo y entrenamiento en laboratorio

Los medios de cultivo cuentan con instrucciones de preparación etiquetadas en el envase. En base a las mismas, se realizó la preparación de los medios MacConkey, Nutritivo, P selectivo y Müller-Hinton. (Especificaciones de fabricante: Becton, Dickinson and Company, 2015)

1. Se pesaron en la balanza 4.6 gramos de medio de cultivo nutritivo y se diluyeron en 200 ml de agua destilada utilizando un matraz. La solución fue luego distribuida en 20 tubos de ensayo de tapa rosca.
2. Se pesaron 25 g de medio de cultivo MacConkey y se mezcló en 500 ml de agua destilada utilizando un matraz de tapa rosca de 1000 ml.

3. Se pesaron 26.6 g de medio de cultivo Müller-Hinton y se diluyó en 700 ml de agua destilada utilizando un matraz de tapa rosca de 1000 ml.
4. Se pesaron 22.5 g de medio de cultivo P y se diluyeron en 490 ml de agua destilada, a ésta se añadió 10 ml de Glicerol y se mezcló todo en un matraz de tapa rosca de 1000 ml.
5. Todos los medios diluidos se cerraron, dejando algo destapada la tapa rosca para evitar exceso de presión en el matraz y tubos al momento de calentarse la solución.
6. Se introdujeron los medios en el autoclave, donde permanecieron a 121°C y 1 atmósfera de presión durante 15 minutos.
7. Se dejó enfriar los medios durante 40 minutos. Los tubos de agar nutritivo se dejaron enfriar en posición horizontal para que se forme un “pico de flauta”.
8. Se llevó los medios a la cámara de flujo laminar donde se repartieron en cada caja Petri (llenando hasta 1/3 de la capacidad de la misma) contando así con: 25 medios P, 30 medios Müller-Hinton y 23 medios MacConkey.
9. Estos grupos de medios se almacenaron en una funda plástica y se etiquetaron como propiedad de la tesista.
10. Estas fundas fueron depositadas en la refrigeradora del laboratorio de donde fueron retirados para ser utilizados.

Durante este proceso fueron instruidas las normas de seguridad del laboratorio, además del procedimiento de eliminación de desechos, de pedidos de materiales y de almacenamiento y etiquetado.

3.4.3 Toma y transporte de muestras

La toma de muestras se realizó durante 4 semanas (5 muestras a la semana), siguiendo todas con el mismo protocolo.

1. Se introdujo el hisopo del medio de transporte Stuart 4-5 cm en la manguera y con movimientos circulares se lo dirigió hacia afuera,

pasando por las paredes de la misma en las zonas de unión del tubo del equipo (unión con la máquina y con el traqueotubo). En caso de existir varias mangueras en uso se realizó el hisopado en todas creando un pool de muestra.

2. Se colocó el hisopo con la muestra dentro del medio de transporte de Stuart
3. Se etiquetaron las muestras con el número de referencia correspondiente al establecimiento y la hora de su toma.
4. Se posicionaron las muestras en un frasco de vidrio vacío para que no tengan contacto con el gel frío, dentro del termo para transporte de muestras.
5. Se realizaron 5 días de muestreo para los 20 establecimientos en el correspondiente día para asegurar la llegada al laboratorio dentro de las 6 horas de duración del medio de transporte.

3.4.4 Procesamiento de muestras en el laboratorio

Metodología tomada de: *Clinical Veterinary Microbiology*, 2013 y modificada en razón de disponibilidad de materiales y costos del estudio.

1. Se encendió el mechero y se prosiguió a ordenar los materiales en la mesa de trabajo (5 medios MacConkey, marcador indeleble, cinta masking, esfero)
2. Se extrajo el medio de transporte Stuart del termo de transporte y se extrajo el hisopo manteniendo una distancia del mechero no mayor a 30 cm para evitar contaminación de la muestra por el ambiente.
3. Se tomó el medio MacConkey y se abrió manteniendo la misma distancia del mechero y se estrió la muestra, de manera cuadrante, en el medio de cultivo.
4. Se realizó el inóculo primario y posteriormente se procedió a realizar el estriamiento en el medio utilizado.

5. Se cerró el medio de cultivo y se marcó con el número de referencia correspondiente a la muestra
6. Con cinta *masking* se cerró el medio y se etiquetó con las especificaciones del laboratorio: Tema de tesis resumido, seguido de la palabra tesis, nombre de tutor/a, fecha de siembra y fecha de desecho.
7. Se repitió el mismo procedimiento con cada muestra tomada.
8. Se introdujeron los medios de cultivo en la Incubadora a 37-38°C y 238-600 atmósferas durante 24 horas.

3.4.5 Identificación de *P. aeruginosa*

1. Se extrajeron los medios MacConkey de la incubadora y se observó los resultados de crecimiento bacteriano después de 24 horas en incubación. Los posibles resultados en este paso eran:
 1. Negativo
 2. Lactosa Positivo
 3. Lactosa negativo lisa
 4. Lactosa negativo rugosa
 5. Lactosa negativo mucoide

En caso de ser opciones 3, 4 ó 5 se tomaron estas colonias con morfología diferente y se utilizaron para siembra en medio de cultivo P.

2. Se abrió el medio que presentaba colonias de características diferentes, a menos de 30 cm del mechero y con el asa de estriación se tomaron las colonias y se estrió en medio P con método cuadrante (inóculo primario y estriamiento).
3. Se etiquetó el medio P. con el código o número de referencia del establecimiento y se cerró con cinta *masking*, etiquetando en la misma los datos requeridos por el laboratorio mencionados en el paso 5 de Procesamiento de muestras en el laboratorio.

4. Se introdujeron los medios de cultivo P. en la incubadora a 37-38°C y 238 a 600 atmósferas durante 48 horas aproximadamente.
5. Se extrajeron los medios P. de la incubadora y se leyeron los resultados de crecimiento:
 1. Negativo
 2. Amarillo
 3. Pigmento pirocianina
 4. Pigmento pioverdina
 5. Pigmento piorubina
 6. Pigmento piomelanina

En caso de darse crecimiento de las opciones 2, 3, 4, 5 ó 6 se tomaron estas colonias para siembra en medio de cultivo Nutritivo

6. Se abrió el medio P que presentaba alguno de los pigmentos mencionados, a menos de 30 cm del mechero y con el asa de estriación se tomaron las colonias.
7. Se abrió el medio nutritivo cerca del mechero y utilizando el asa de estriación, se sembró las colonias antes tomadas.
8. Se cerró el medio nutritivo y se escribió en el mismo el número de referencia de la muestra.
9. Se etiquetó con cinta *masking* el tubo de acuerdo a las especificaciones mencionadas en el paso 5 de Procesamiento de las muestras en el laboratorio.
10. Se llevaron los tubos de ensayo con medio de cultivo nutritivo y la muestra sembrada a la incubadora donde permanecieron durante 24 horas a 37 a 38°C y 238-600 atmósferas.
11. Después de 24 horas se extrajeron los tubos de la incubadora.
12. Se depositó con una pinza metálica estéril, un disco de oxidasa en un portaobjetos.
13. Se abrió el medio nutritivo con la muestra, a no más de 30 cm de distancia del mechero, y con el asa de estriación se tomó una colonia y

se la depositó en el disco. Este resultado se leía inmediatamente (tiempo máximo de lectura según especificaciones de manufactura es 1 minuto)

14. Se depositó una pequeña cantidad de peróxido de hidrógeno en un portaobjetos.

15. Se abrió el medio nutritivo con la muestra, cerca del mechero y se tomó con el asa de estriación una pequeña cantidad de colonias.

Se depositó las colonias en el peróxido de hidrógeno y se observó la reacción (reacción inmediata)

3.4.6 Antibiograma

Posterior a la realización de los pasos anteriores, con la misma muestra incubada en medio de cultivo nutritivo, se realizó una prueba de McFarland y un antibiograma para determinar sensibilidad o resistencia a antimicrobianos.

1. Se tomó el tubo con medio nutritivo y se abrió a una distancia menor a 30 cm del mechero.
2. Con un hisopo estéril se tomó una pequeña cantidad de colonias de la muestra y se cerró el medio nutritivo.
3. Se depositó las colonias tomadas en un tubo de tapa roja con 2ml de cloruro de sodio al 0.9% estéril con el hisopo y se mezcló un poco.
4. Se depositó el tubo con la muestra en el Turbidímetro y se esperó el resultado que podía ser: menor a 0.5; igual a 0.5; mayor a 0.5
5. Se realizaron estos pasos hasta que el resultado sea igual a 0.5.
6. Cuando se obtuvo una solución de 0.5 en escala de McFarland, se tomó con un hisopo estéril algo de la misma, a una distancia menor a 30 cm del mechero.
7. Se abrió de la misma manera el medio Müller.Hinton y se realizó con el hisopo una estriación completa (todo el medio 3 veces)
8. Se tomó con la pinza metálica los discos de antimicrobianos evitando quemarlos y se depositaron en el medio de cultivo formando una cruz a una distancia de aproximadamente 4 cm entre ellos.

9. Se tapó el medio y se marcó con el número de referencia de la muestra
10. Se cerró el medio con cinta *masking* y se etiquetó siguiendo las especificaciones del laboratorio mencionadas en el paso 5 de Procesamiento de muestras en el laboratorio.
11. Se introdujeron los medios en la incubadora a una temperatura de 37-38°C y 238-600 atmósferas durante 24 horas.
12. Se extrajeron los medios de la incubadora y se leyeron los resultados registrándolos como muestra la Tabla 12:

Tabla 12 Registro de resultados de antibiograma.

Núm. Ref.	Amoxi.+clavulanato	Cefa.	Sulfatrim.	Ciprofloxacina			Imipenem		
				S ≥21	I 16-20	R ≤15	S ≥19	I 16-18	R ≤15

Los tres primeros antimicrobianos debían resultar resistentes para cumplir con las características de *P. aeruginosa*. Los dos últimos debían ser leídos en base a la tabla de medición de halos de inhibición estandarizados.

3.4.7 Control de calidad

Se obtuvo una muestra de *P. aeruginosa* confirmada (ATCC) con la cual se realizaron los controles de calidad de los medios preparados y los protocolos aplicados, previa realización de los muestreos. Esta fue entregada por el Laboratorio Microbiológico del Hospital Baca Ortiz en medio de cultivo P. La muestra siguió el mismo protocolo antes mencionado, desde la siembra en medio MacConkey hasta la lectura de resultados del antibiograma.

3.4.8 Identificación de *Pseudomona putida*

Al encontrarse resultados no concordantes con *Pseudomona aeruginosa*, se enviaron las muestras para su aislamiento e identificación en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de niños Baca Ortiz en la ciudad de Quito. Este envió

como resultado, después del procedimiento de identificación detallado en el Anexo 5, proporcionado por la Dra. Ximena Villalba B, Jefa de Laboratorio del Hospital Baca Ortiz, se definió a las muestras como positivas a *Pseudomona putida* (ver Anexo 6).

3.4.9 Eliminación de desechos

Los desechos fueron eliminados de acuerdo al Protocolo de eliminación de desechos del laboratorio. Todo desecho infeccioso fue depositado en un cajón etiquetado para este fin y manejado como desecho biológico de categoría “Cultivos Bacterianos” por las personas encargadas de Asistencia de Laboratorio. El protocolo que siguen los desechos es el siguiente:

1. Inactivación con hipoclorito al 5% por 30 minutos
2. Esterilización por 30 minutos a 121°C
3. Separación en bolsa roja
4. Almacenamiento intermedio
5. Transporte y disposición final.

3.4.10 Control de método de desinfección

1. Se inoculó con *P. putida* de las colonias aisladas durante el muestreo, una manguera de anestesia inhalatoria desechable limpia, tomando colonias del medio de cultivo P con un hisopo estéril.
2. Se realizó el mismo procedimiento con *P. aeruginosa* ATCC en otra manguera con las mismas características.
3. Se almacenaron las mangueras en bolsas plásticas y en una caja de plástico con tapa durante 48 horas.
4. Se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente, desde la toma de muestras con medio Stuart hasta la lectura de resultados del Antibiograma, con cada una de las mangueras.

5. Se desinfectaron individualmente las mangueras, sumergiéndolas en hipoclorito de sodio comercial con dilución en agua destilada de 1:10 durante 10 minutos. (CDC, 2008)
6. Se dejaron secar las mangueras colgándolas durante 8 horas.
7. Se realizó el muestreo nuevamente y se repitió el proceso completo.

3.4.11 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las encuestas fueron introducidos en Excel. Se obtuvieron gráficos que representen la distribución de respuestas más relevantes obtenidas de las preguntas realizadas por la encuesta a los profesionales en cada establecimiento.

El análisis de los resultados en relación a las variables presentadas se realizó en Excel con gráficos, representando la distribución de las respuestas según agrupación por resultado obtenido (negativo, positivo a presencia bacteriana y positivo a *P. putida*).

De igual manera, en Excel se analizó estadísticamente la significancia de las variables identificadas como relevantes en este estudio (frecuencia de uso de máquina, tiempo de uso de máquina, hábito de limpieza, frecuencia de limpieza, agentes desinfectantes utilizados) y se aplicó el análisis de diferencia significativa entre categorías, mediante el uso de la prueba de *Chi* cuadrado.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestran los resultados de la aplicación de las encuestas y del análisis de laboratorio de las muestras obtenidas en 15 clínicas y 5 hospitales veterinarios, durante los meses de Junio, Julio y Agosto de 2015.

En el cantón Quito se realizó el muestreo de 14 clínicas veterinarias y 4 hospitales veterinarios, en el cantón Rumiñahui se realizó muestreo de 2 hospitales veterinarios, completando así con el tamaño de muestra requerido de 20 establecimientos veterinarios.

Habiéndose realizado el estudio bajo la metodología descrita en el Capítulo 3, cumpliendo con los protocolos para la identificación de *Pseudomona aeruginosa* y relacionando los datos encontrados con la información recopilada de las encuestas realizadas previa al estudio microbiológico se presentan a continuación los resultados obtenidos.

4.1 RESULTADOS DE LA ENCUESTA

4.1.1 Frecuencia de uso del equipo de anestesia inhalatoria

La pregunta número 1 de la encuesta, tenía el fin de relacionar los resultados con la frecuencia de uso que se da a la máquina de anestesia inhalatoria y por ende la frecuencia de uso de las mangueras de este circuito. Los resultados se presentan en la Figura 3.

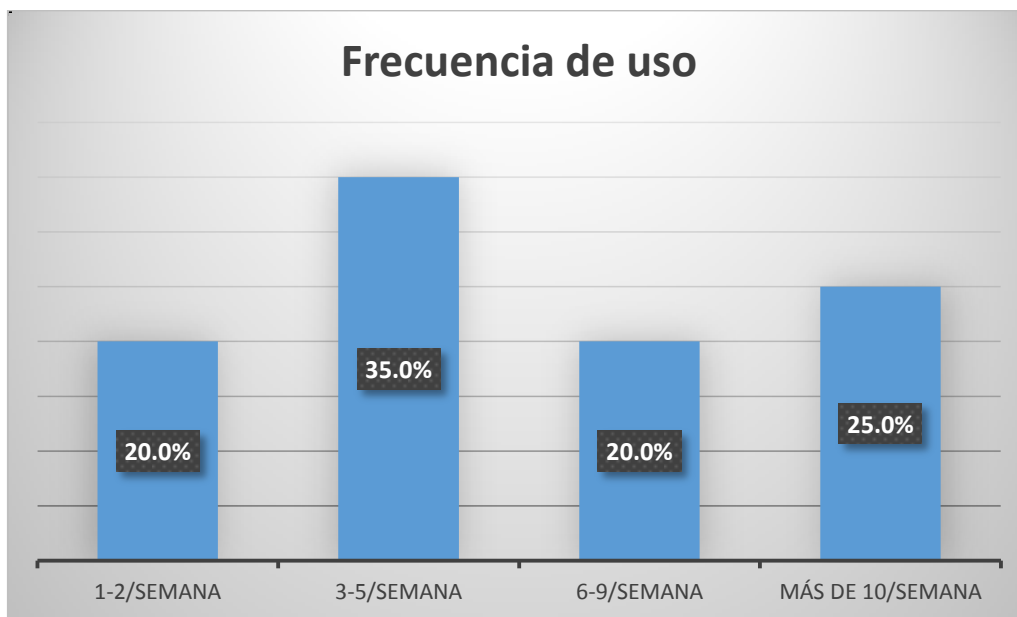
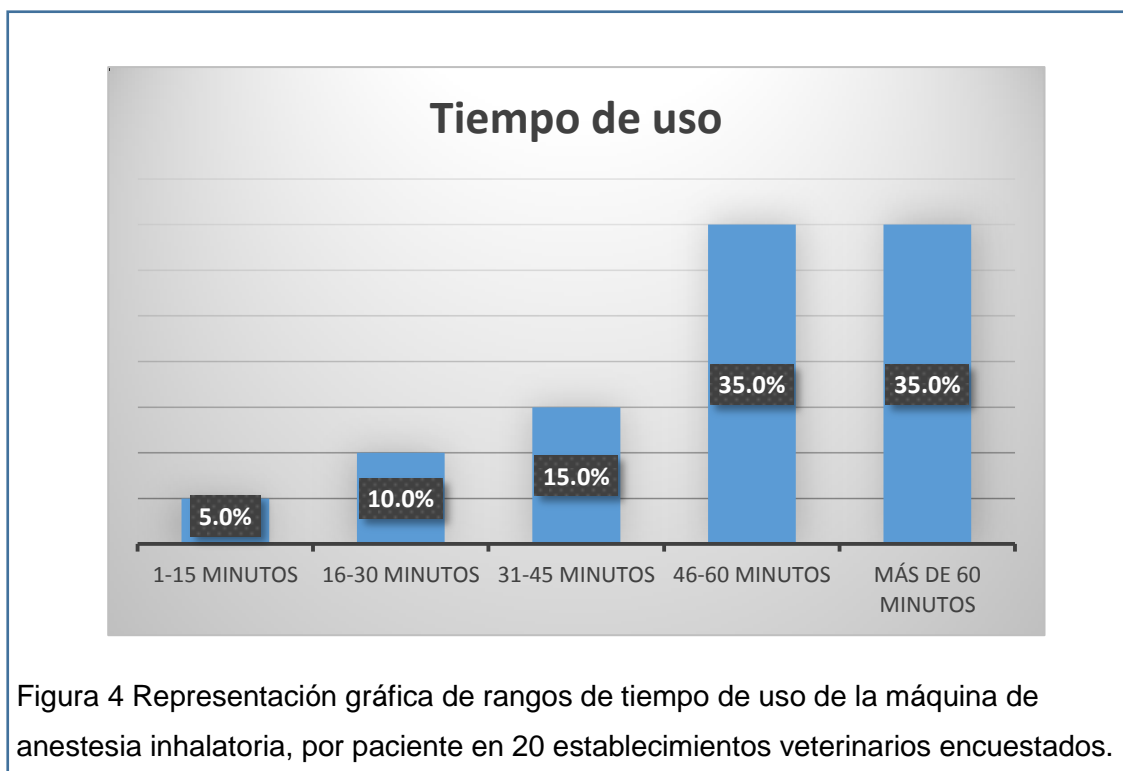


Figura 3 Representación gráfica de frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria en 20 establecimientos veterinarios de Quito

Se demuestra así que el 35% de establecimientos utilizan la máquina de anestesia inhalatoria entre 3 a 5 veces por semana, siguiendo con el 25% con un uso de más de 10 veces a la semana. Con el 20% respectivamente, sigue el uso entre 1 - 2 y 6 - 9 veces por semana. Estos resultados se encuentran dispersos de manera homogénea, con un uso moderado en su mayoría. El alto porcentaje de uso más de 10 veces a la semana es un indicador del tipo de procedimientos invasivos manejados que requieren un estado de anestesia y para los cuales se está utilizando fármacos inhalatorios.

La segunda pregunta de la encuesta estaba direccionada a la determinación de los rangos de tiempo de uso de la máquina por intervención en cada paciente. La Figura 4 representa los resultados encontrados.



El 35% de establecimientos reportaron usar la máquina durante más de 45 minutos y el mismo porcentaje más de 60 minutos. El 15% la usa entre 31 y 45 minutos y el 10% de 16 a 30 minutos, finalizando con el 5% con 1 a 15 minutos. Esto demuestra que más de la mitad de profesionales la utilizan por un periodo de tiempo considerado de larga duración. La razón puede estar relacionada al tipo de cirugías realizadas (ortopédicas y de emergencia), aunque también debe considerarse que para procedimientos cortos usualmente se escoge el uso de anestesia fija para disminuir costos a los propietarios de las mascotas.

Entre las medidas de prevención de medicina humana para evitar neumonía nosocomial, se menciona que la intubación de los pacientes sea evitada cuando sea posible y en caso de ser necesaria, que sea durante el menor tiempo necesario. A esto se le suma la posición del paciente en 35-45° para evitar reflujo gástrico y su inhalación, además de ajustar la presión del balón del tubo endotraqueal evitando paso de patógenos alrededor del mismo. El condensado que se forma en el circuito debe ser eliminado de la misma manera, evitando su entrada al tubo (Cañarte et al., 2010).

Sin embargo, en medicina humana los pacientes llegan a estar intubados durante varios días, contrario al caso de medicina veterinaria donde los pacientes son intubados únicamente para procedimientos quirúrgicos, siendo estos según las respuestas un máximo de 300 minutos o 5 horas.

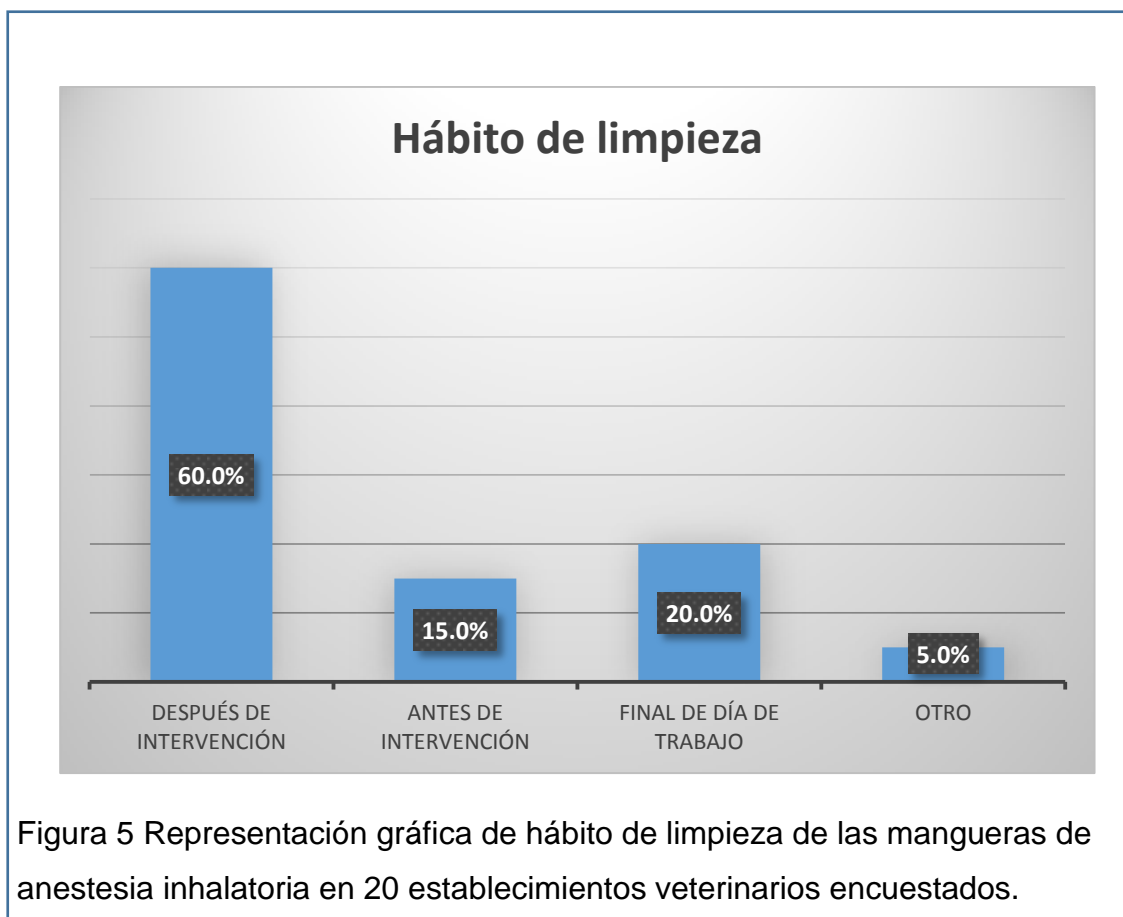
Considerando la guía de anestesia para perros y gatos de la Asociación Americana de Hospitales para Animales (AAHA por sus siglas en inglés), para procedimientos poco invasivos, menores a 30 minutos, se debe usar sedación sin anestesia inhalatoria, pero con disponibilidad de materiales de manejo respiratorio en caso de que el paciente requiriese asistencia para respirar (Bednarski et al., 2011).

Sin embargo, Overmyer, Thonusin, Qi, Burant y Evans (2015) mencionan en su estudio que analizó tejidos de roedores para determinar el impacto de la anestesia en el metabolismo, observando que la exposición a anestésicos en tiempo mayor a 60 minutos es considerado un largo plazo.

Tomando estas consideraciones, un procedimiento en promedio mayor a 45 minutos, podría ya tomarse como un tiempo amplio de anestesia. Al comparar esto con los resultados obtenidos del 70% de uso en rangos mayores a 45 minutos, se puede decir que el tiempo de anestesia inhalatoria manejado en los establecimientos veterinarios de Quito es largo.

4.1.2 Hábitos de limpieza de circuitos de anestesia inhalatoria.

Como tercera pregunta de la encuesta se determinó el hábito de limpieza de cada establecimiento de acuerdo a opciones de limpieza: antes de la intervención, después de la misma, al final del día de trabajo o con otro tipo de manejo. Los resultados obtenidos son los siguientes expresados gráficamente en la Figura 5.

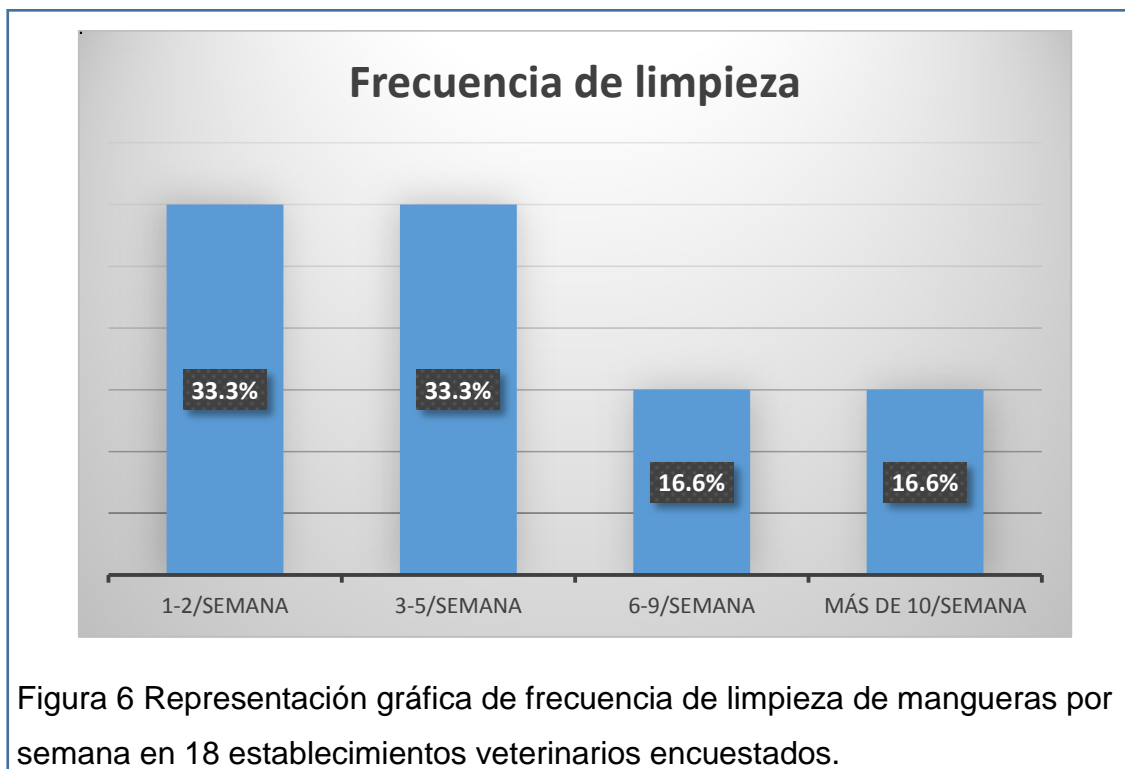


Esto representa 60% de profesionales encuestados maneja la limpieza de las mangueras inmediatamente después de su uso. Un menor número, 20%, describe que la limpieza se maneja al final del día de trabajo. Un 15% de establecimientos respondieron realizar la limpieza de la manguera antes de ser usada y 5% de ellos reportó no manejar ninguna de las tres opciones, sino que realiza una sola desinfección al mes. Este manejo, en su mayoría post uso, determina que la intubación se realice con mangueras desinfectadas mayor tiempo antes de ser usadas nuevamente, permitiéndolas estar secas al momento de reutilizarlas y evitando formar un medio húmedo que propicie crecimiento bacteriano.

Tomando las recomendaciones de mantenimiento del entorno quirúrgico de Fossum et al. (2009, p.19), la limpieza de equipos de quirófano entre los cuales se incluye la máquina de anestesia, debe realizarse después de la última intervención del día. Sin embargo, esto no incluye la manguera de anestesia al

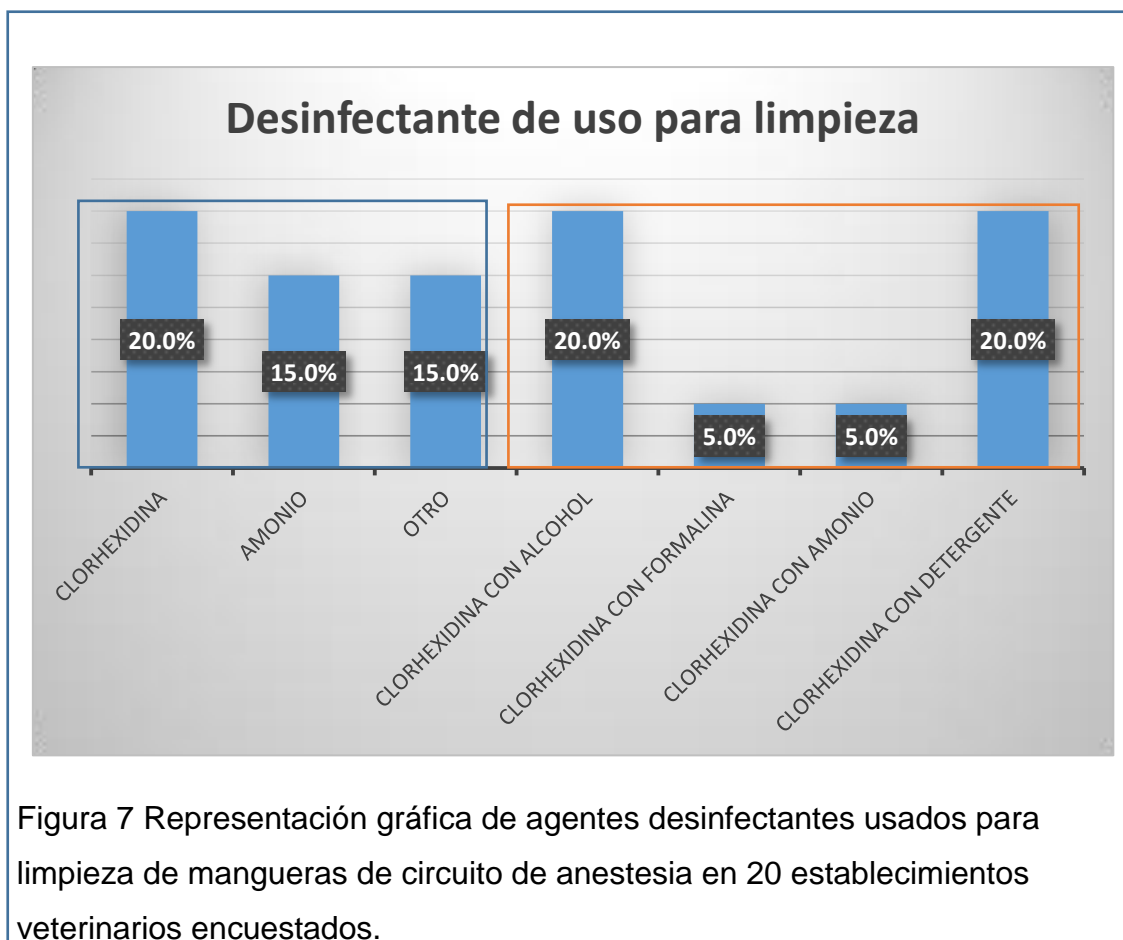
poder estar ésta en contacto con sustancias orgánicas. En ese caso, las mangueras deberían desinfectarse después de cada uso en el caso de reutilizarlas.

La cuarta pregunta se refiere a la frecuencia de limpieza que se da a las mangueras en cada establecimiento. La Figura 6 representa los resultados reportados respecto a esta pregunta.



El 33% de establecimientos reporta realizar la limpieza de las mangueras entre 1 a 2 veces por semana, 33% 3 a 5 veces y el 16% 6 a 9 veces y más de 10 veces respectivamente. Esto indica discordancia con las respuestas obtenidas en relación a la frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria. Es importante mencionar que existieron dos respuestas fuera de estos rangos, con la realización de la limpieza una vez al mes, siendo estos porcentajes calculados con total de 18 encuestas.

La quinta pregunta de la encuesta reporta los resultados relacionados al agente/s desinfectante/s usados para la limpieza de las mangueras del circuito de anestesia inhalatoria. La Figura 7 demuestra los resultados obtenidos.



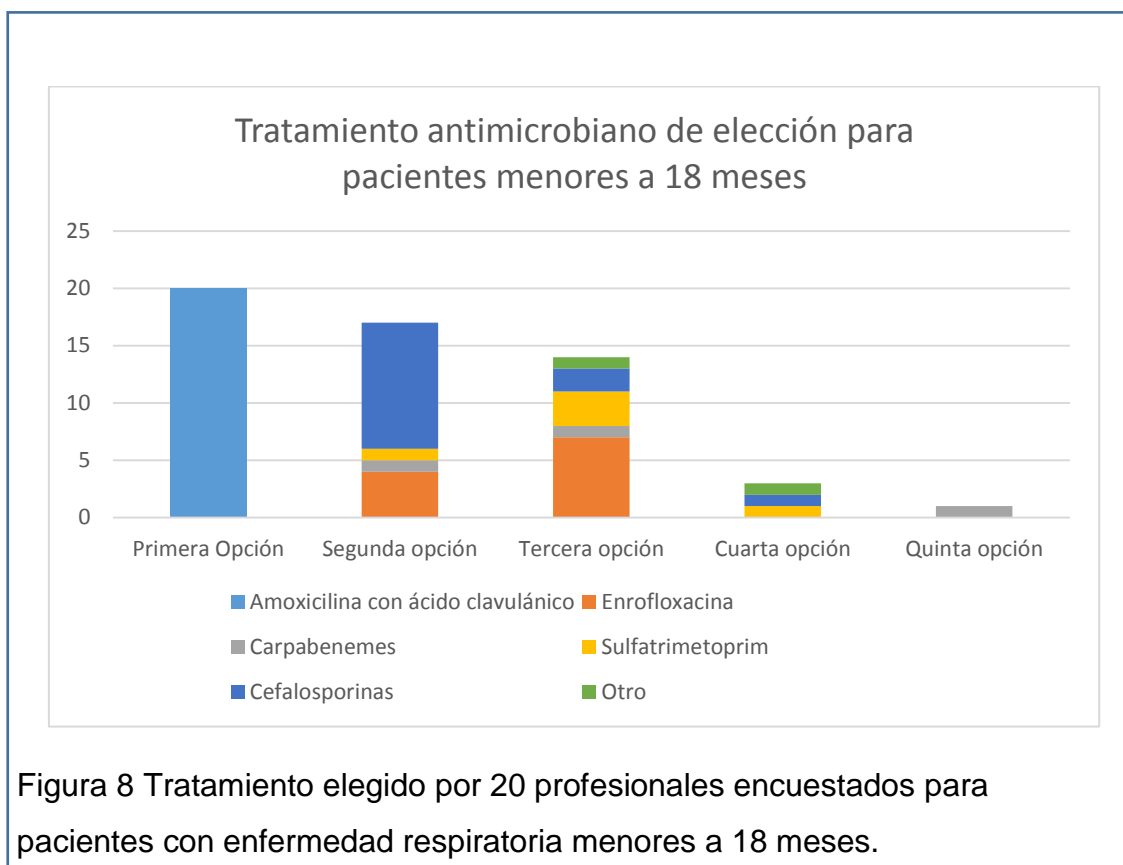
Este gráfico nos demuestra el alto número de establecimientos que utilizan la clorhexidina o una combinación con la misma para la limpieza de sus mangueras de anestesia. El 20% utiliza clorhexidina sola, otro 20% utiliza clorhexidina con alcohol y otro 20% utiliza clorhexidina con detergente. Con el 5% cada uno, se reportó el uso de clorhexidina con formalina y clorhexidina con amonio. Juntos, el 70% de establecimientos usan clorhexidina como parte de su protocolo de limpieza de las mangueras de anestesia inhalatoria. Únicamente 30% de establecimientos utilizan otros compuestos que no incluyen clorhexidina; 15% amonio y 15% otro tipo de desinfectante (formalina o desinfectantes enzimáticos). Como se menciona en el Capítulo 2, las *Pseudomonas* pueden crecer en soluciones de clorhexidina o amonio, generando esto un factor de riesgo para colonización por este género bacteriano (Markey et al., 2013, p. 275).

Según Fossum et al. (2009, p. 19) los materiales que hayan estado en contacto con peligros biológicos deben desinfectarse tomando precauciones especiales, usando agentes desinfectantes específicos con duración adecuada. También se menciona que los equipos sean desinfectados según las direcciones de fábrica.

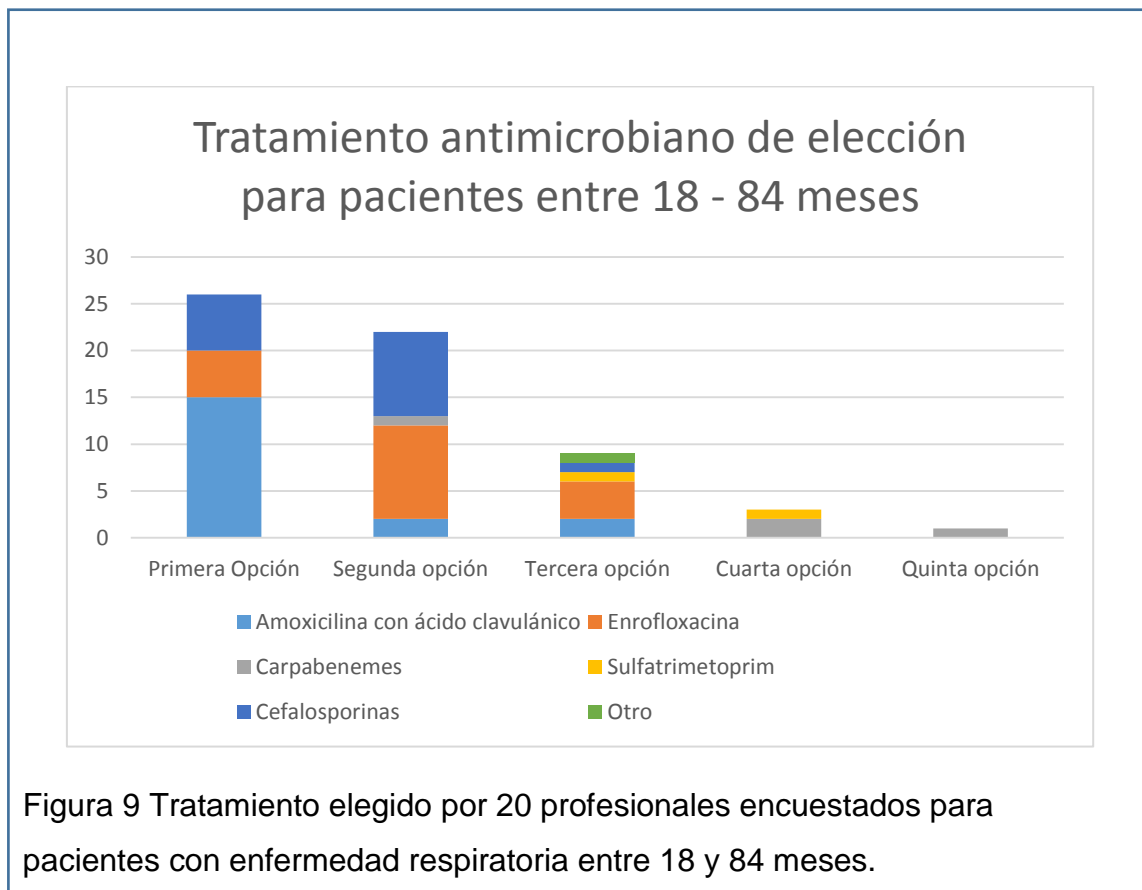
El circuito de anestesia, considerando las mangueras y tubos endotraqueales, son considerados por el CDC (2008), como elementos semicríticos en contacto con piel o mucosa intacta. Así, estos elementos requieren desinfección mínima de alto nivel con soluciones eficaces en la eliminación de un amplio espectro de microorganismos, las cuales no incluyen amonio o clorhexidina.

4.1.3 Manejo antimicrobiano en infecciones respiratorias

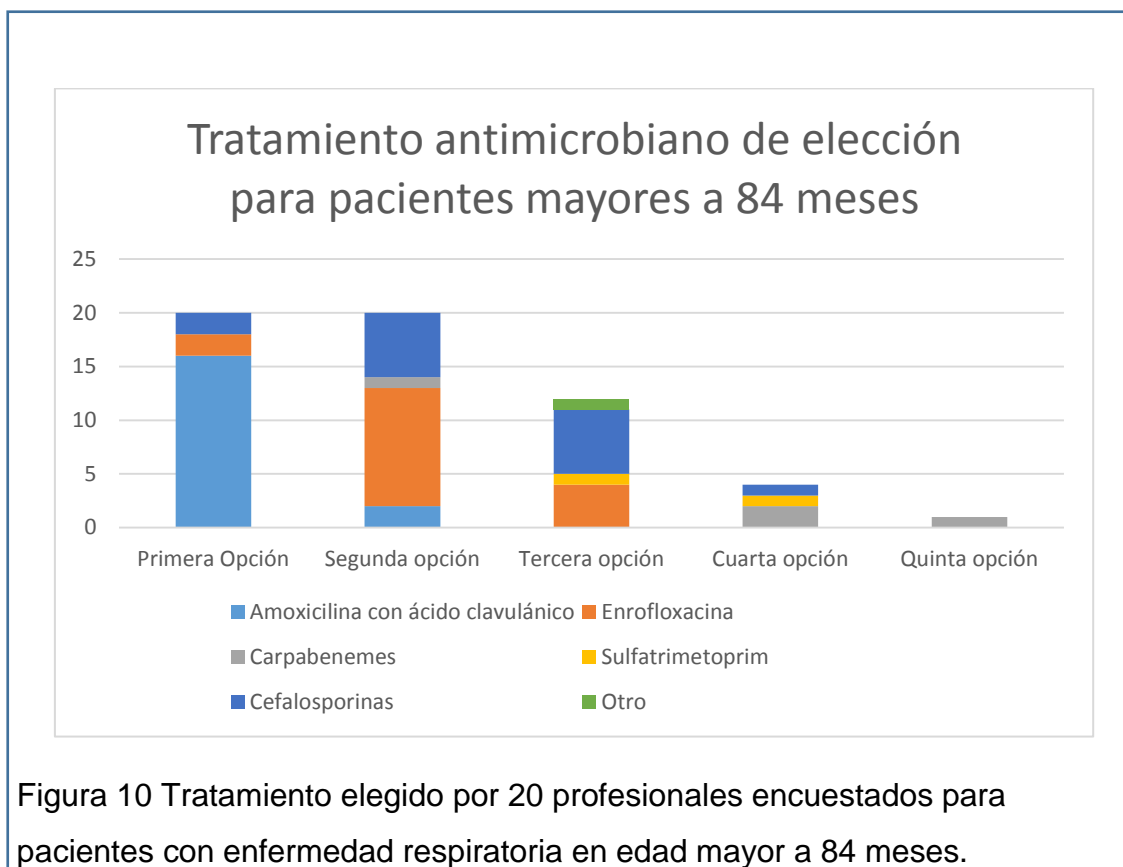
La tercera parte de la encuesta relacionada al tratamiento antimicrobiano de elección para pacientes que presentan enfermedades respiratorias contaba con tres preguntas, dividiendo la población de pacientes por edades en: cachorros (0-18 meses), adultos (19-84 meses) y gerontes (mayores a 84 meses). La pregunta pedía enumerar por uso los antimicrobianos presentados, dependiendo de la edad de los pacientes, considerando el número 1 como primera opción y los siguientes números como las siguientes opciones en el tratamiento. Las Figuras 8,9 y 10 representan los resultados obtenidos.



El gráfico expresa la elección de los profesionales por el tratamiento con el antimicrobiano amoxicilina con el inhibidor de β -lactamasas ácido clavulánico o clavulanato como primera opción de fármaco. La segunda opción de mayor acogida son las cefalosporinas, seguidas por enrofloxacina como tercera opción. En este caso, la enrofloxacina se sustituyó por ciprofloxacina para la medición de sensibilidad antimicrobiana en el antibiograma.



El gráfico explica la selección de los profesionales para tratar enfermedades respiratorias en mascotas adultas, demostrando la primera elección que es nuevamente amoxicilina con ácido clavulánico, seguida por enrofloxacin y cefalosporinas.



Las respuestas entregadas en este caso fueron similares a lo detallado anteriormente, excepto que la elección de segunda opción, la cual cambia por enrofloxacina en lugar de cefalosporinas.

Se demuestra con estos resultados que la mayoría de profesionales veterinarios prefiere las primeras tres opciones de fármacos (amoxicilina-clavulanato, cefalosporinas y enrofloxacina) para tratar enfermedades respiratorias, con un bajo porcentaje tomando en cuenta otras opciones como son imipenem, ticarcilina u otros antimicrobianos de mayor espectro de acción. Como menciona Fossum et al. (2009, pp. 80-81) los antibióticos en casos de infecciones quirúrgicas de uso habitual en veterinaria son: cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación (siendo ceftazidima la única eficaz contra *Pseudomona aeruginosa*), azitromicina, clindamicina, gentamicina, amikacina, ticarcilina con ácido clavulánico, imipenem-cilastatina (eficaz contra *Pseudomonas*), enrofloxacino, difloxacino, orbifloxacino, vancomicina y metronidazol.

Esto demuestra similitud con los resultados de las encuestas, principalmente tomando en cuenta la falta de antibióticos eficaces contra *Pseudomonas*.

Sin embargo, un estudio sobre Neumonía Bacterial en Perros y Gatos publicado por Dear (2014) sugiere que las guías basadas en bibliografía para tratamiento de infecciones respiratorias son las siguientes:

- Paciente estable con leves signos clínicos: Sulfatrimetoprim, Amoxicilina-ácido clavulánico como agentes únicos de tratamiento.
- Signos clínicos moderados: los mismos agentes mencionados antes o terapia doble de Amoxicilina-ácido clavulánico con Enrofloxacin o Amikacina
- Pacientes críticos con signos clínicos severos: terapia doble mencionada antes o terapia única con Timentin-ácido clavulánico, Meropenem o Imipenem.

4.2 RESULTADOS DE CULTIVO *in vitro*

Los resultados del cultivo *in vitro* en medio MacConkey realizadas en las 20 muestras recolectadas demuestran que 14/20 muestras (70%) no presentaron crecimiento bacteriano alguno, y 6 muestras (30%) resultaron positivas al crecimiento bacteriano; de ellas, 3/6 (50%) con presencia de colonias características lactosa positivas. Según la metodología detallada en el Capítulo 3, estas muestras no siguieron a las pruebas o cultivos posteriores al no presentar características del género *Pseudomonas*. En medio de cultivo MacConkey podía existir presencia de colonias con varias características.

En medio de cultivo MacConkey, 4/20 (20%) de muestras presentaron crecimiento de colonias lactosa negativa. Estas 4 muestras siguieron el proceso completo de identificación de *Pseudomonas*, con 3 de ellas presentando crecimiento en medio de cultivo P, con un color amarillo fluorescente distinto a los 4 pigmentos característicos de *P. aeruginosa*,

representando esto el 15% de muestras. Las tres muestras mencionadas obtuvieron resultados de: oxidasa positiva, catalasa positiva y fueron inoculadas en medio de cultivo Müller Hinton. En este recibieron resultados de sensibilidad a Imipenem y Ciprofloxacina y de resistencia a Sulfatrimetoprim y Cefazolina. El resultado de Amoxicilina con ácido clavulánico presentó un halo de inhibición indicativo de características no compatibles con *P. aeruginosa*, razón por la cual se enviaron las muestras a identificación en el Hospital Baca Ortiz donde se obtuvo el resultado positivo de *Pseudomona putida* en los tres casos.

Una muestra lactosa negativa, con crecimiento de distintas características en medio de cultivo P obtuvo resultados de oxidasa negativa y catalasa positiva, con sensibilidad a Imipenem, Ciprofloxacina, resultado intermedio a Sulfatrimetoprim y resistente a Cefazolina y Amoxicilina ácido clavulánico, siendo estos resultados no compatibles a *Pseudomonas*.

Todos los resultados del cultivo *in vitro* se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13 Resultados del cultivo *in vitro* y pruebas bioquímicas realizadas en las 20 muestras recolectadas.

Núm	Código	Agar McConkey					Agar P						Oxidasa	Catalasa	Agar Müller-Hinton					
		Cre	L	CL	CR	CM	Cre	Pc	Pv	Pr	Pm	F			AA	C	SP	CP	IM	
1	32	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2	17	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3	28	-	+				-						NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4	23	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5	20			+++								+++	+	+	I	R	R	S	S	
6	25	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
7	29		-		+++		-													
8	15			+++								+++	+	+	I	R	R	S	S	
9	12	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	02	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
11	04	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
12	27	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
13	03	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
14	31			+++								+++	+	+	I	R	R	S	S	
15	7	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
16	8	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
17	14	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
18	19	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
19	5	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
20	13-1		+				-						+	+	R	R	I	S	S	
	13-2			+++					++				-	+	R	R	I	S	S	

Nota: Núm (número); Cre (Crecimiento); - (negativo); + (positivo); L (lactosa); CL (colonias lisas); CR (colonias rugosas); CM (colonias mucoides); Pc (pigmento pirocianina); Pv (pigmento pioverdina); Pr (pigmento pirorubina); Pm (pigmento piomelanina); F (coloración amarillo fluorescente); AA (Amoxicilina + Ácido clavulánico); C (Cefazolina); SP (Sulfatrimetoprim); CP (Ciprofloxacina); IM (Imipenem); I (sensibilidad intermedia); R (resistente); S (sensible); NA (no aplica).

Se observó que no existe presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en las mangueras de los equipos de anestesia inhalatoria de hospitales y clínicas veterinarias analizadas. Sin embargo, se identificó la presencia de *Pseudomonas putida* en 3 de los 20 establecimientos participantes del estudio (15%), además de determinarse presencia de otros géneros bacterianos en 3 establecimientos más (15%).

Adicionalmente en este estudio, se realizaron 2 contaminaciones, una con *P. aeruginosa* y otra con *P. putida*, en dos mangueras de anestesia inhalatoria, que fueron analizadas, siguiendo el mismo protocolo antes y después de desinfección con hipoclorito sódico comercial en concentración de 1:10 durante 10 minutos, siguiendo las recomendaciones del CDC (2008), para eliminación de *Pseudomonas*; en ambos casos los resultados fueron negativos. Comprobándose la eficacia de este desinfectante para eliminar *Pseudomonas*, tomándose en cuenta que los restos del hipoclorito sódico deben eliminarse de las mangueras, porque pueden ser muy irritantes para la mucosa respiratoria de los pacientes. Esta recomendación se dicta en el boletín técnico que se detalla en el Anexo 8.

En el año 2015 se publicó un estudio realizado en Estados Unidos, donde se buscaba determinar la variabilidad de presencia de *P. putida* y *P. fluorescens* en ambientes domiciliarios. Los resultados presentaron que en las condiciones de dicho país, *P. putida* fue aislada con mayor frecuencia en verano y otoño, a pesar de haberse aislado en las otras estaciones con menor frecuencia. Además de esto, *P. putida* fue aislada con mayor frecuencia de muestras de suelo y fue aislada de la piel y tracto respiratorio superior de humanos y mascotas saludables (Remold, Purdy-Gibson, France y Hundley, 2015).

Pudo determinarse en otro estudio similar en 2011, realizado por algunos de los mismos autores, que las 6 especies de *Pseudomonas* de mayor aislamiento en viviendas de humanos son: *P. monteilii*, *P. plecoglossicida*, *P. fulva*, *P. aeruginosa*, *P. putida* y *P. oryzihabitans*. Este estudio trató de diferenciar el uso del hábitat de las especies aisladas y partición de nicho. Los resultados

sugirieron que las diferentes especies parten sus nichos, creciendo en diferente cantidad cuando en el mismo hábitat (Remold et al., 2011, p.1).

Tomando en cuenta ambos estudios, se puede mencionar que el clima templado de Quito podría favorecer el crecimiento de las bacterias encontradas, en especial de *P. putida* al no tener temperaturas de frío extremo como en Estados Unidos. Además de esto, la bacteria se encuentra en animales de compañía sin presentar signos clínicos probando un factor de riesgo para contaminación de materiales hospitalarios.

Es importante mencionar también que no se encontró bibliografía que describa la importancia clínica de *P. putida* en animales; sin embargo, Dear (2014) menciona las bacterias comúnmente aisladas de tracto respiratorio en caninos con neumonía, donde no se encuentra *P. putida*.

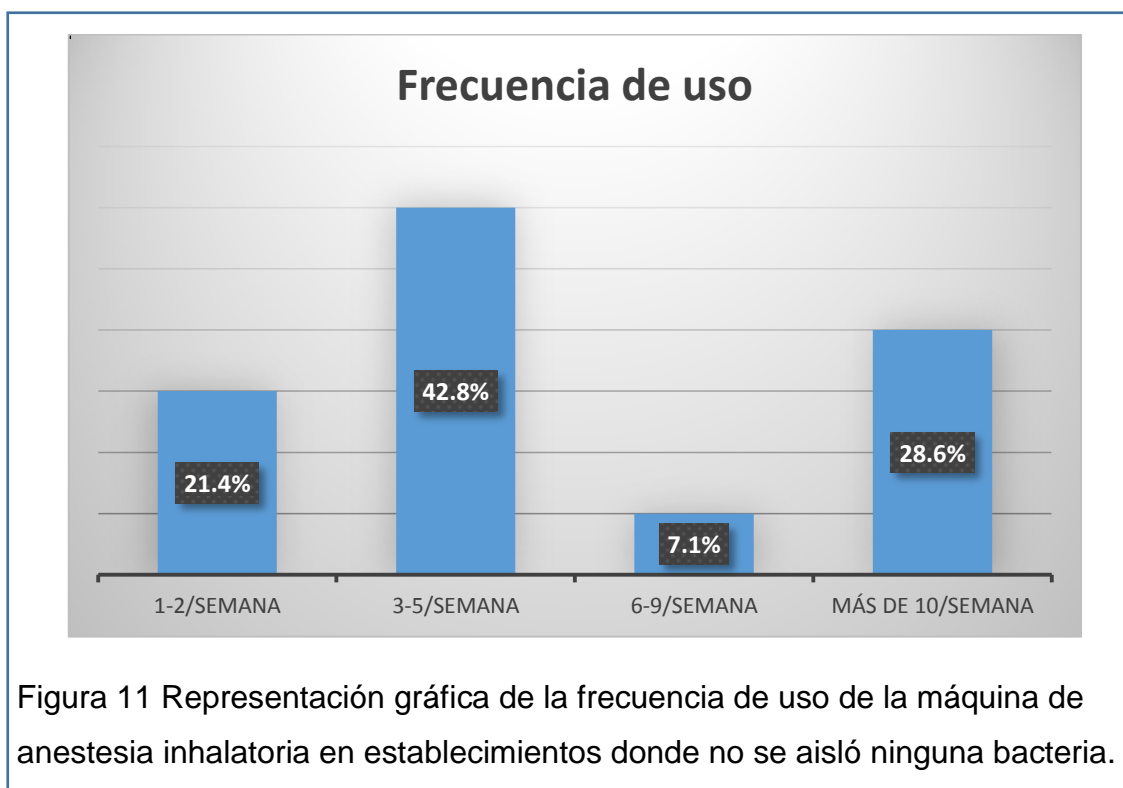
Otro estudio realizado retrospectivamente entre 2005 y 2008 presentó como resultado que en pacientes con neumonía por aspiración, los cultivos microbiológicos fueron positivos a presencia de *P. aeruginosa* en 4.3% de los casos (Tart, Babski y Lee, 2010, p. 324).

4.2.1 Resultados de muestras donde no se aisló ninguna bacteria en asociación a variables

Se puede observar que 14 de las 20 hisopados recolectados no presentaron crecimiento bacteriano al uso de los medios de cultivo utilizados. Esto representa el 70% de resultados negativos. De esto, se relaciona a continuación el resultado con 5 variables:

- Frecuencia de uso de máquina
- Tiempo de uso de máquina
- Hábito de limpieza
- Frecuencia de limpieza
- Agentes desinfectantes utilizados

En la Figura 11 se representa gráficamente la relación de los resultados negativos con la frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria.



Se puede observar que 3 de 14, el 21% de establecimientos veterinarios donde no se aislaron bacterias, tienen un uso de la máquina de anestesia inhalatoria de entre 1 a 2 veces a la semana, presentando esto un uso bajo en relación a otros establecimientos en el estudio. El 42% de muestras con resultado negativo, se asocian a uso de 3 a 5 veces por semana, siendo esta la frecuencia de mayor uso. El 7% reporta el uso de la máquina entre 6 a 9 veces en la semana. El 28% reporta uso más de 10 veces por semana. Casi la mitad (42%) de los establecimientos con resultado negativo usan la máquina de anestesia de 3 a 5 veces por semana, pudiendo demostrar que no es un uso de muy alta frecuencia y las mangueras podrían estar menos expuestas a contaminación.

La Figura 12 grafica el tiempo de uso que se da en cada paciente a la máquina de anestesia y por consiguiente a las mangueras de anestesia inhalatoria.

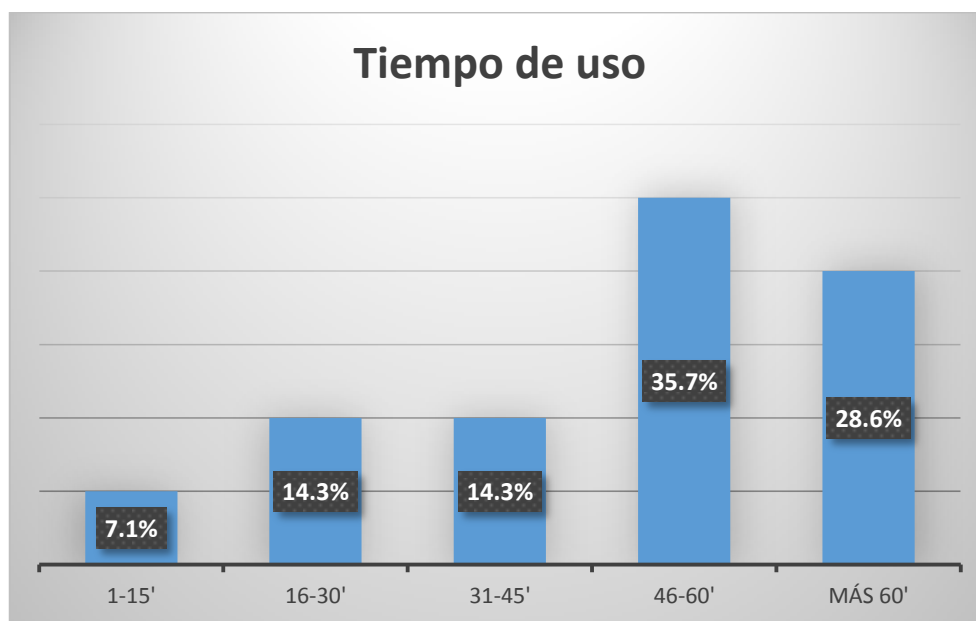


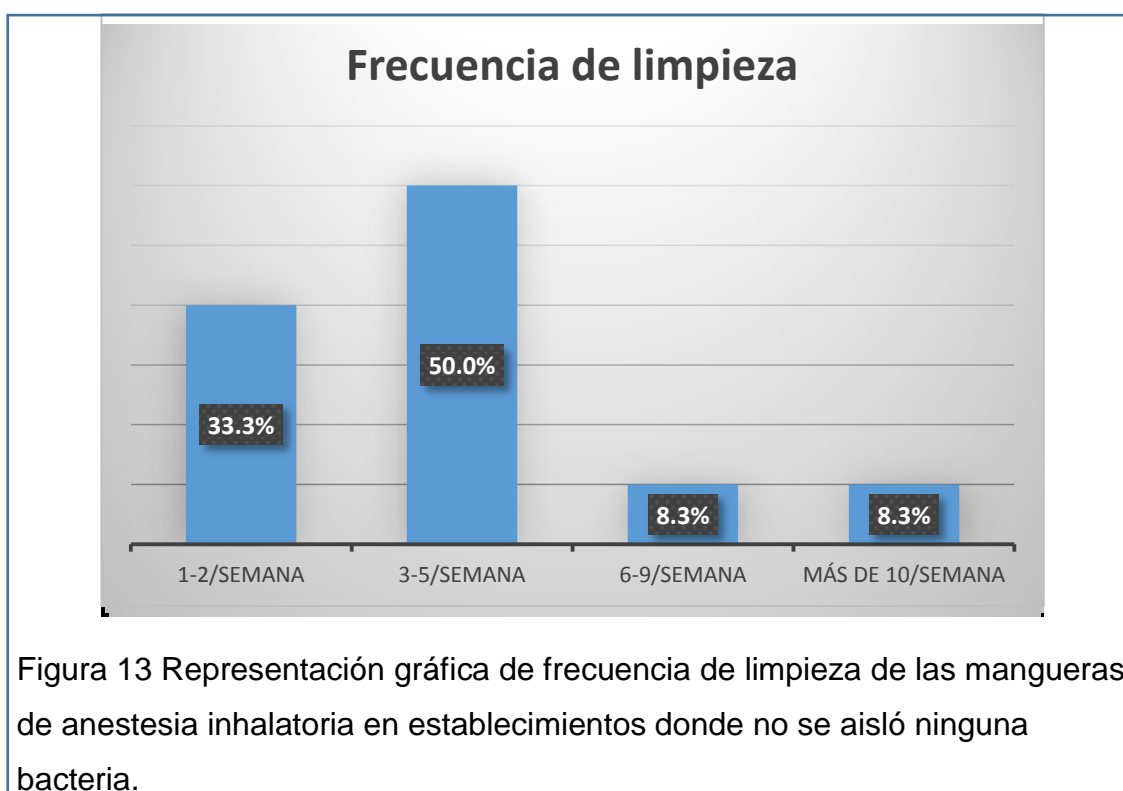
Figura 12 Representación gráfica de rangos de tiempo de uso de máquina de anestesia inhalatoria por paciente, expresados en minutos.

En este gráfico se puede observar que el 36% de establecimientos con resultados negativos utilizan la máquina un tiempo aproximado de 46 a 60 minutos en cada paciente. Esto representa un tiempo de intubación relativamente largo en comparación al 21% de establecimientos que utilizan la máquina en el paciente durante 1 a 30 minutos, evitando así un tiempo de intubación prolongado. El 28% de profesionales en el estudio y con resultado negativo a presencia bacteriana utilizan la máquina más de 60 minutos, siendo este un alto porcentaje que la utiliza durante un amplio rango de tiempo. El 14% de encuestas presenta el tiempo de uso dentro de 31 a 45 minutos y 16 a 30 minutos respectivamente. Únicamente el 7% la utilizan menos de 15 minutos por intervención. Esto puede relacionarse a las indicaciones de la AAHA que propone manejar sedación en lugar de anestesia profunda en caso de que sean procedimientos simples no invasivos (Bednarski et al., 2011).

Se pudo determinar que la gran mayoría de clínicas y hospitales con resultado negativo, el 57%, maneja la limpieza de sus mangueras inmediatamente

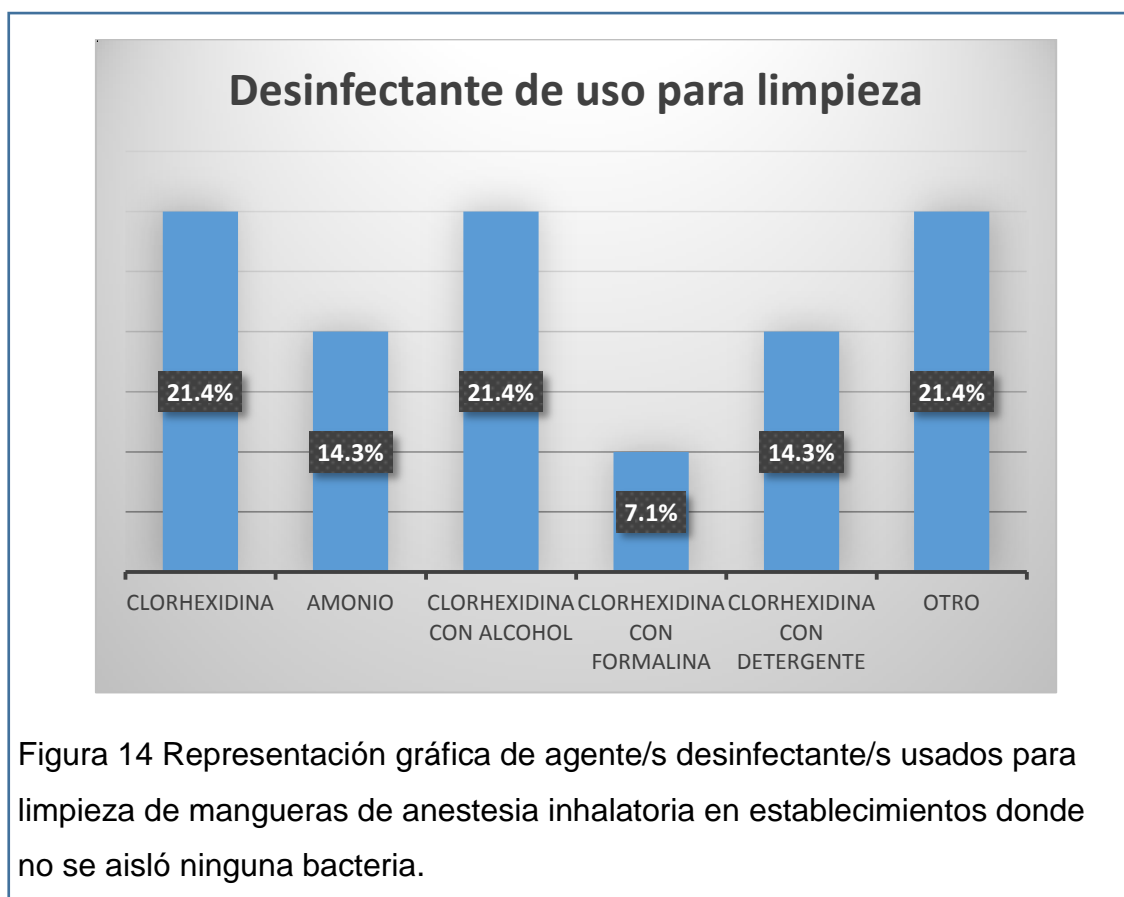
después de ser usadas en cada paciente. El 29% lo maneja después de las intervenciones del día de trabajo y únicamente el 14% maneja la limpieza antes de los procedimientos médicos en los pacientes sometidos a anestesia inhalatoria.

En la Figura 13 se demuestra la frecuencia de limpieza manejada en los establecimientos veterinarios que obtuvieron un resultado negativo en el cultivo *in vitro*.



Se puede determinar que el 33% de profesionales realiza la limpieza de sus mangueras de anestesia aproximadamente 1 a 2 veces por semana y el 50% de 3 a 5 veces por semana. El 8.3% reporta hacerlo 6 a 9 y más de 10 veces por semana respectivamente. Esto no está relacionado a la frecuencia de uso y hábito de limpieza mencionados previamente, demostrando discordancia en las respuestas entregadas al realizar la encuesta. También se debe mencionar que los porcentajes se dan de total de 12 encuestas, ya que en dos de ellas se respondió que se realiza la limpieza 1 vez al mes, saliendo de los parámetros para agrupación de respuestas.

En relación a la quinta pregunta, la Figura 14 señala el o los agentes desinfectantes de uso por las clínicas y hospitales veterinarios muestreados y que obtuvieron un resultado negativo para presencia bacteriana.



Este gráfico indica que se maneja en igual medida clorhexidina y clorhexidina con alcohol como desinfectante, ambos con el 22% reportado. A esta elección le sigue el manejo con otros agentes desinfectantes entre los cuales se incluía: desinfectantes enzimáticos y pastillas de formalina. El amonio y la clorhexidina con detergente fueron las opciones siguientes escogidas, ambas con 14% y clorhexidina con formalina con el porcentaje menor de 7%.

4.2.2 Resultados positivos para *Pseudomona putida* en asociación a las variables

A partir de los estudios microbiológicos realizados y especificados en el Capítulo 3 de Metodología, se determinó presencia de *Pseudomona putida* en 3 de los 20 establecimientos muestreados, significando el 15% del total de muestras.

Se relacionan a continuación estos resultados con las 5 variables antes mencionadas.

La frecuencia de uso en el caso de los resultados con presencia de *P. putida* fue en un 67% de 6 a 9 veces por semana y en 33% de 3 a 5 veces por semana.

Con esta información, se puede decir que la frecuencia de uso de las máquinas y, por consiguiente, de las mangueras del circuito de anestesia en las muestras con presencia de *P. putida* es relativamente alta.

Se evidenció que los establecimientos, en un 67%, manejan el uso de la máquina durante aproximadamente 46 a 60 minutos y un 33% más de 60 minutos. Ambos resultados pueden considerarse como tiempo de intubación prolongado.

Se indicó que el 67% de profesionales reportan manejar la limpieza de sus mangueras de anestesia inhalatoria, después de su uso en cada paciente. El 33% restante la maneja previo a la intervención médica bajo anestesia inhalatoria.

Se determinó también que el 67% de clínicas y hospitales con presencia de *P. putida* en sus mangueras de anestesia inhalatoria, maneja la limpieza de las mismas aproximadamente 6 a 9 veces por semana y el 33% más de 10 veces.

Este resultado presenta un aumento de la frecuencia con la que se está limpiando las mangueras en relación al uso que se les da.

El resultado que indica los agentes desinfectantes usados demuestra que el uso de combinaciones con clorhexidina (con amonio, alcohol o detergente) es utilizado al 100% para todos los casos de presencia de *P. putida*. En el caso de la combinación de clorhexidina con alcohol, que podría considerarse efectiva si se toman en cuenta los resultados de la Figura 14, reportando el uso de agentes desinfectantes en relación a los resultados negativos, la diferencia puede darse por la concentración en la que se usaron los compuestos. Si a esto se le suma la diferencia mencionada anteriormente entre uso-limpieza, se puede demostrar los factores de riesgo disponentes para presencia de esta bacteria.

4.2.3 Resultados positivos para presencia bacteriana, no perteneciente al género *Pseudomonas*

A partir de los estudios microbiológicos realizados y especificados en el Capítulo 3 de Metodología, se determinó presencia bacteriana en 3 de los 20 establecimientos muestreados, significando esto el 15%. El género y especie de dichas bacterias no se puede especificar debido a que los materiales de identificación microbiológica obtenidos para la realización de este estudio eran específicos y selectivos para el género *Pseudomonas*.

Se relacionan a continuación estos resultados con las 5 variables antes mencionadas

Se evidenció que la frecuencia de uso manejada en un 33% en cada caso es de: 1 a 2 veces, 6 a 9 veces y más de 10 veces por semana, siendo estos resultados dispersos homogéneamente.

Se pudo indicar que el 67% de los profesionales utilizan la máquina durante más de 60 minutos y el 33% restante la utiliza durante aproximadamente 31 a

45 minutos. Ambos rangos de tiempo pueden considerarse como un largo tiempo de intubación.

El 100% de establecimientos reporta manejar la limpieza de las mangueras después de su uso en cada paciente.

Continuando con el manejo de limpieza, se puede indicar que el 67% de profesionales reportan realizar la limpieza de las mangueras de 1 a 2 veces por semana y el 33% más de 10. Al comparar esto con los resultados que reportan el uso de la máquina y de los que reportan realizar la limpieza de la manguera después de cada intervención, se evidencia falta de concordancia con las respuestas, debiendo tener una dispersión homogénea similar a la frecuencia de uso y no menor frecuencia de lavado en relación al uso.

Se puede observar que la clorhexidina y el amonio con 33.3% y 33.3% respectivamente son usados solos como agentes desinfectantes. El 33.3% reporta utilizar clorhexidina con detergente para la limpieza de sus mangueras de anestesia inhalatoria. Esta combinación al ser comparada con la Figura 14 que reporta el 14% usándola como agente desinfectante, puede presentar este resultado positivo por diferencia en concentración de cada agente o por diferencia en el tiempo de desinfección manejado en cada establecimiento.

4.2.4 Comparación de resultados obtenidos de cultivo *in vitro*

En el caso de frecuencia de uso, en los tres resultados obtenidos se tuvo una distribución homogénea de respuestas, pudiendo decir que la frecuencia de uso no se encuentra relacionada a la presencia de bacterias en las mangueras. En relación al tiempo de uso de la máquina en cada paciente, el rango de tiempo con mayores porcentajes se encontraba sobre los 46 minutos, diciendo esto que el tiempo de uso pudo haber presentado una influencia en la presencia de las bacterias.

Los hábitos de limpieza en los tres casos se dan mayoritariamente de manera inmediata después del uso de las mangueras de anestesia inhalatoria en los pacientes, demostrando esto que la influencia de este manejo en la presencia de bacterias no es de gran importancia.

Los resultados en relación a frecuencia de limpieza se encuentran dispersos, y se debe mencionar la discordancia entre frecuencia de uso y frecuencia de limpieza en los casos de presencia de bacterias. En el caso de *P. putida*, se evidencia mayor frecuencia de lavado que de uso, además de realizarse con desinfectantes en combinaciones a base de clorhexidina. En el caso de bacterias de otros géneros, la discordancia se da con menor frecuencia de lavado que de uso.

Para finalizar, los agentes desinfectantes utilizados para la limpieza de las mangueras del circuito de anestesia inhalatoria presentaron porcentajes variados. En el caso de clorhexidina sola, el 22% de resultados negativos reportaron usarla, en comparación al 33% que la usa y que obtuvieron resultado positivo a bacterias de otros géneros distintos a *Pseudomonas*. Por otro lado, la combinación de clorhexidina con alcohol es usada en porcentaje similar, 22% en negativos y 33% en *P. putida*, demostrando que el cambio puede darse por diferencia en las concentraciones usadas de los compuestos. El amonio o la clorhexidina con amonio se presentan en ambos casos de presencia bacteriana con el 33% en cada caso, pudiendo ser este un factor de riesgo para crecimiento bacteriano.

Los resultados se ven evidenciados y resumidos en el boletín técnico detallado en el Anexo 8.

4.3 Cálculos de significancia

Se calcula la significancia de tres variables utilizando la fórmula de *Chi* cuadrado:

- Relación entre frecuencia de uso y frecuencia de limpieza con presencia bacteriana
- Agentes desinfectantes utilizados
- Tiempo de uso por paciente

Los resultados son los presentados en las Tablas 14, 15 y 16.

Tabla 14 Significancia de frecuencia limpieza-uso con presencia bacteriana.

	Menor frecuencia de limpieza que de uso	Igual frecuencia de limpieza que de uso	Menor frecuencia de limpieza que de uso	Total
Presencia Bacteriana	(1-1.8) ² /1.8 0.35	(4-3.3) ² /3.3 0.148	(1-0.9) ² /0.9 0.01	6
Ausencia Bacteriana	(5-4.2) ² /4.2 0.15	(7-7.7) ² /7.7 0.063	(2-2.1) ² /2.1 0.0047	14
Total	6	11	3	20

$\chi^2 = 0.35 + 0.148 + 0.01 + 0.15 + 0.063 + 0.0047$

$\chi^2 = 0.757$

H1: La relación frecuencia de limpieza-uso tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

H2: La relación frecuencia de limpieza-uso no tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

Según el cálculo de χ^2 cuadrado, la variable no tiene significancia y se rechaza la hipótesis 1.

Tabla 15 Significancia de agente desinfectante utilizado, con presencia bacteriana.

	Amonio	Clorhexidina sola o en combinación	Otro	Total
Presencia Bacteriana	$(1-0.9)^2/0.9$ 0.01	$(5-4.2)^2/4.2$ 0.15	$(0-0.9)^2/0.9$ 0.9	6
Ausencia Bacteriana	$(2-2.1)^2/2.1$ 0.0047	$(9-9.8)^2/9.8$ 0.065	$(3-2.1)^2/2.1$ 0.38	14
Total	3	14	3	20

$\chi^2 = 0.01 + 0.15 + 0.9 + 0.0047 + 0.065 + 0.38$

$\chi^2 = 1.5097$

H1: El agente desinfectante utilizado tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

H2: El agente desinfectante utilizado no tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

Según el cálculo de χ^2 , la variable no tiene significancia y se rechaza la hipótesis 1.

Tabla 16 Significancia de tiempo de uso por paciente con presencia bacteriana.

	Menor a 45 minutos	Mayor a 45 minutos	Total
Presencia Bacteriana	$(1-1.8)^2/1.8$ 0.35	$(5-4.2)^2/4.2$ 0.15	6
Ausencia Bacteriana	$(5-4.2)^2/4.2$ 0.15	$(9-9.8)^2/9.8$ 0.065	14
Total	6	14	20

Chi cuadrado= $0.35+0.15+0.15+0.065$

Chi cuadrado= 0.715

H1: El tiempo de uso de la máquina en cada paciente tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

H2: El tiempo de uso de la máquina en cada paciente no tiene relación con la presencia de bacterias en las mangueras de anestesia inhalatoria.

Según el cálculo de Chi cuadrado, la variable no tiene significancia y se rechaza la hipótesis 1.

Estos resultados podrían deberse al reducido tamaño de la muestra con el que se trabajó, siendo necesario un número más representativo de muestras para disponer de un valor más preciso y posiblemente obtener una diferencia significativa de las variables que podrían estar provocando los resultados obtenidos.

El aumentar el tamaño de la muestra hubiese significado aumento de los costos del estudio, considerando también que el tamaño de la población total es pequeño. Podrían haberse realizado más repeticiones en el muestreo para disminuir el error.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Según los resultados obtenidos del estudio y las referencias bibliográficas relacionadas, se observa que *Pseudomona aeruginosa* no representa un agente etiológico patente para los pacientes de los establecimientos veterinarios incluidos en el estudio, que sufren procedimientos bajo anestesia inhalatoria, rechazando la hipótesis planteada al inicio del estudio.
- En este estudio se aisló otra bacteria del género *Pseudomonas* que sí podría representar un riesgo de infección en los pacientes bajo anestesia inhalatoria, *Pseudomona putida*.
- Los agares selectivos y pruebas bioquímicas permitieron la identificación de bacterias del género *Pseudomona*, cumpliendo con los objetivos propuestos al inicio del estudio, además de haber aportado información valiosa respecto a las diferentes características que diferenciaron a *P. putida* de *P. aeruginosa*.
- Se determinó que la sensibilidad de las bacterias a antimicrobianos difiere entre ambas bacterias, siendo *P. putida* un agente con mayor facilidad de tratamiento, presentando halos de inhibición frente a Amoxicilina-ácido clavulánico. Sin embargo, esta parece presentar tendencia a resistencia por el mismo. El análisis de antibiograma permitió diferenciar a las dos bacterias durante el estudio, habiendo sido este un valioso aporte para la investigación.
- Utilizando los resultados se logró elaborar un boletín técnico, que informa la situación actual respecto a la contaminación de los circuitos de anestesia inhalatoria, además de los métodos profilácticos necesarios para evitar situaciones de riesgo en los pacientes.

- Durante la aplicación del cultivo *in vitro* se identificaron bacterias no pertenecientes al género *Pseudomona*. Con los datos presentados es importante mencionar que el estudio microbiológico en el ambiente hospitalario veterinario requiere mayor atención en nuestras condiciones, siendo este estudio determinante para diferenciar en este caso la situación en medicina humana de la de veterinaria: *P. aeruginosa* no fue aislada de las mangueras de anestesia inhalatoria en Quito, siendo así que esta no presenta un riesgo actual en infecciones nosocomiales en veterinaria actualmente.

5.2 Recomendaciones

- La importancia de los datos encontrados radica en el valor que se debe dar al análisis de la situación hospitalaria veterinaria en Ecuador. Esta investigación presentó resultados relacionados a un solo grupo bacteriano, en un solo material de uso hospitalario, por lo que se recomienda realizar hisopados y análisis microbiológico de tubos endotraqueales, los cuales tienen mayor contacto con sustancias orgánicas y podrían presentar un mayor riesgo para los pacientes, al ser reutilizados.
- Es de gran importancia ampliar los estudios posteriores para generar una base de flora hospitalaria comúnmente encontrada en establecimientos veterinarios de nuestra zona, se recomienda que el análisis *in vitro* acoja mayor cantidad de especies bacterianas, dando mayor importancia a la identificación de las bacterias encontradas, no pertenecientes a *Pseudomonas*.
- Así también, al realizar la comparación de resultados se pudo evidenciar la falta de información sobre *P. putida* en estudios previos. No se conoce su importancia clínica ni factores de virulencia de importancia, aparte de su resistencia intrínseca a antimicrobianos, por lo que sería de suma importancia realizar un estudio que presente los efectos posibles que

puede tener en el organismo de los pacientes, para comparar así el presente estudio.

- Los resultados presentan también una interrogante a determinar mediante nuevas investigaciones. Esta es si la contaminación se está dando desde la manguera a los pacientes o de paciente a manguera. Es necesaria la realización de lavados bronquiales con posteriores cultivos bacterianos que determinen la flora existente en los pacientes caninos y felinos de nuestra zona.
- En relación a la situación hospitalaria, el estudio presenta un importante punto dentro del diagnóstico clínico de enfermedades respiratorias. Es necesario que se analicen los cultivos de muestras de lavados bronquiales en casos de neumonías crónicas, para generar alerta sobre agentes patógenos presentes en el medio, además de conocer el estado de resistencia a los antimicrobianos de uso actual.

REFERENCIAS

- Álvarez, J. (2014). *Cirugía General*. Ecuador, Quito: Universidad de las Américas.
- Bednarski, R., Grimm, K., Harvey, R., Lukasik, V., Penn, S., Sargent, B. y Spelts, K. (2011). *AAHA Anesthesia Guidelines for Dogs and Cats*. Recuperado el 30 de octubre de https://www.aaha.org/graphics/original/professional/resources/guidelines/anesthesia_guidelines_for_dogs_and_cats.pdf
- Brenner, D., Krieg, N. y Staley, J. (Eds.). (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (2ª ed.). Vol.2. Michigan, Estados Unidos: Springer
- Bureo, N. (2008). *Fiebre en el paciente Postoperado*. Recuperado el 24 de octubre de 2014 de: <http://es.slideshare.net/nicolasbureo/fiebre-en-el-paciente-postoperado-presentation>
- Cañarte, G., Sacoto, M., Beltrán, P., Santos, P., Santa Cruz, C. y Loor, M. (2010). *Manual de protocolos para manejos de pacientes críticos en las áreas de UCI*. Recuperado el 29 de octubre de 2015 de <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6067/1/PROTOCOLO%20ACTUALIZADO%20DOS.pdf>
- Center for Disease Control. (2008). *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008*. Recuperado el 28 de octubre de 2015 de http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf
- Dear, J. (2014). *Bacterial Pneumonia in Dogs and Cats*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 44(1). Recuperado el 30 de octubre de 2015 de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561613001952>
- Forbes, B., Sahm, D. y Weissfeld, A. (2009). *Bailey & Scott; Diagnóstico Microbiológico*. (12ª. Ed). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Fossum, T., Hedlund, C., Johnson, A., Schulz, K., Seim, H. Willard, M., Bahr, A. u Carroll, G. (2009). *Cirugía en pequeños animales*. (3ª. Ed.). Barcelona, España: ELSEVIER.

- Greene, C. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. (3a. Ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica
- Gómez, I. (2010). *Infección Nosocomial*. Recuperado el 18 de noviembre de 2014, de: http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/medicina-preventiva-y-salud-publica/materiales-de-clase-1/TEMA35_INFECION_HOSPITALARIA.pdf
- Gómez, N. y Guida, N. (2010). *Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter-Médica.
- Herrera, M. (2011). *Fórmula para el cálculo de la muestra poblaciones finitas*. Recuperado el 30 de noviembre de 2014 de <http://investigacionpediahr.files.wordpress.com/2011/01/formula-para-cc3a1culo-de-la-muestra-poblaciones-finitas-var-categorica.pdf>
- Instituto Geográfico Militar. (2015). Ciudad de Quito. Recuperado el 26 de octubre de 2015 de <http://www.geoportaligm.gob.ec/portal/index.php/visualizador/>
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinae, A. y Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. (2ª ed.). St. Louis, Estados Unidos: MOSBY ELSEVIER
- Organización Mundial de la Salud. (2003). *Prevención de las infecciones nosocomiales*. Recuperado el 10 de enero de 2015 de http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EP_H_2002_12.pdf
- Overmyer, K., Thonusin, C., Qi, N., Burant, C. y Evans, C. (2015). *Impact of Anesthesia and Euthanasia on Metabolomics of Mammalian Tissues: Studies in a C57BL/6J Mouse Model*. Recuperado el 2 de noviembre de 2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4319778/>
- Remold, S., Brown, C., Farris, T., Hundley, T., Perpich, J. y Purdy, M. (2011). *Differential Habitat Use and Niche Partitioning by Pseudomonas Species in Human Homes*. *Environmental Microbiology*. 62(3). Recuperado el 29 de octubre de 2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21503776>

- Remold, S., Purdy-Gibson, M., France, M. y Hundley, T. (2015). *Pseudomonas putida and Pseudomonas fluorescens Species Group Recovery from Human Homes Varies Seasonally and by Environment*. Recuperado el 29 de octubre de 2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4449118/>
- Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. (3ª. Ed.). México D.F., México: Editorial Médica Panamericana.
- Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. (2010). *Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales 2010*. España, Asturias: Hospital Universitario Central de Asturias.
- Stanchi, N., Martino, P., Gentillini, E., Reinoso, E., Echeverría, M., Leardini, N. y Copes, J. (Eds.).(2007). *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica Editorial.
- Tart, K., Babski, D. y Lee, J. (2010). *Potential risks, prognostic indicators, and diagnostic and treatment modalities affecting survival in dogs with presumptive aspiration pneumonia: 125 cases (2005-2008)*. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. 20(3), p. 324. Recuperado el 3 de noviembre de
- Valenzuela, C., M. (2001). *Infecciones nosocomiales: un tema emergente en medicina veterinaria*. TecnoVet, 7 (2). Recuperado el 24 de octubre de 2014 de <http://www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5287/5167>
- Vallés, J. y Mariscal, D. (2005). *Neumonía por Pseudomonas aeruginosa*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23 (3), 30-36.

ANEXOS

Anexo 1. Lista de clínicas y hospitales con permiso de funcionamiento en Quito.

RAZON SOCIAL / EMPRESA	PROVINCIA	CANTON	PARROQUIAS	SECTOR
VETERINARIO SAN ALFONSO	PICHINCHA	QUITO	COTOCOLLAO	RUMIÑAHUI
HEALTHY PETS	PICHINCHA	QUITO	EL BATAN	JIPIJAPA
S.O.S VETERINARIA	PICHINCHA	QUITO	EL BATÁN	IÑÁQUITO - EL BATÁN
CLINICA VETERINARIA BRASIL	PICHINCHA	QUITO	CAHUPLICRUZ	NORTE
CUENTAS EN PARTICIPACIÓN CLÍNICA VETERINARIA CARE FOR PETS	PICHINCHA	QUITO	TUMBACO	CENTRO
MEDIC VET	PICHINCHA	QUITO	ALANGASI	PLAYA CHICA
VETERINARIA DEL VALLE	PICHINCHA	QUITO	NAYON	MIRAVALLE
CLINICA VETERINARIA SAN BERNARDO	PICHINCHA	QUITO	CUMBAYA	LA COMARCA
VETERPET	PICHINCHA	QUITO	CHAUPICRUZ	EL INCA
MIER ORTIZ MANUEL ESTEBAN	PICHINCHA	QUITO	SAN ISIDRO	SAN ISIDRO DEL INCA
CONSULTORIO VETERINARIO Y PESHOP "LA MASCOTA"	PICHINCHA	QUITO	ELOY ALFARO	VILLAFLOA
VET2HOME	PICHINCHA	QUITO	TUMBACO	TOLA GRANDE
UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO	PICHINCHA	QUITO	CUMBAYA	CUMBAYA
VETERINARIA PERROS Y GATOS	PICHINCHA	QUITO	CHAUPICRUZ	JIPIJAPA
A.BASSET'S CLINCA VETERINARIA	PICHINCHA	QUITO	LA FLORESTA	LA FLORESTA
VETERINARIA TERRIER	PICHINCHA	QUITO	LA MAGDALENA	LA MAGDALENA
UNIVERSIDAD DE LAS AMERICAS	PICHINCHA	QUITO	BATAN	BATAN
CLINICA VETERINARIA DINO SUR	PICHINCHA	QUITO	ELOY ALFARO	SUR

FUNDACION PROTECCION ANIMAL ECUADOR (PAE)	PICHINCHA	QUITO	BENALCAZAR	LA RUMIPAMBA
FUNDACION DE PROTECCION ANIMAL ECUADOR (PAE) UNIDAD MOVIL	PICHINCHA	QUITO	DENTROL DE LAS PARROQUIAS	VARIOS
VETERIANRIA COKER	PICHINCHA	QUITO	CONOCOTO	CONOCOTO
GARRAS HUELLAS Y	PICHINCHA	QUITO	EL INCA	EL INCA
CLINICA VETERINARIA COLON CLIVETCOL CIA LTDA	PICHINCHA	QUITO	CHAUPICRUZ	JIPIJAPA
MEDIPET	PICHINCHA	QUITO	CHAUPICRUZ	CONCEPCION
FACULTAD DE MEDICINA Y VETERINARIA UCE	PICHINCHA	QUITO	SANTA PRISCA	UCE
MR DOG	PICHINCHA	QUITO	CHAUPICRUZ	LA CONCEPCION
MEDIVET	PICHINCHA	QUITO	LOS CHILLOS	LOS CHILLOS
VETS & PETS	PICHINCHA	QUITO	COTOCOLLAO	SAN CARLOS
SOLUVET S.A.	PICHINCHA	QUITO	BENALCAZAR	EL BATAN
HOSPITAL VETERINARIO DE ESPECIALIDADES S	PICHINCHA	QUITO	CONDADO	CONDADO
HOSPITAL VETERINARIO LUCKY CIA. LTDA.	PICHINCHA	QUITO	CONOCOTO	CONOCOTO
PET SHOP	PICHINCHA	QUITO	COTOCOLLAO	RUMIÑAHUI

Anexo 2. Encuesta

Primera parte: Datos de identificación

Nombre Establecimiento	Propietario/Director Médico
Código Establecimiento	

Segunda Parte

9. ¿Cuál es aproximadamente la frecuencia de uso de la máquina de anestesia inhalatoria en su establecimiento?

10. ¿Por cuánto tiempo aproximadamente se utiliza la máquina de anestesia en cada paciente?

11. La limpieza de la manguera del equipo de anestesia inhalatoria se realiza:
 - Inmediatamente después de la intervención de cada paciente
 - Al final del día de trabajo
 - Antes de la intervención en cada paciente
 - Otro

12. ¿Cuántas veces a la semana aproximadamente realiza limpieza de la manguera del equipo de anestesia?

13. ¿Con qué desinfecta las mangueras del equipo de anestesia?
 - Clorhexidina
 - Detergente
 - Amonio
 - Alcohol
 - Yodo
 - Combinación (Cuál)
 - Otro (Cuál)

Tercera parte

Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos menores a 18 meses

- Amoxicilina + Ácido Clavulánico
- Enrofloxacina
- Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
- Sulfatrimetoprim
- Cefalosporinas
- Otro (Cuál)

Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos mayores a 18 meses y menores a 84 meses (7 años)

- Amoxicilina + Ácido Clavulánico
- Enrofloxacina
- Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
- Sulfatrimetoprim
- Cefalosporinas
- Otro (Cuál)

Enumere en función de uso los siguientes antimicrobianos que utiliza para tratamiento de enfermedades respiratorias en caninos mayores a 84 meses (7 años)

- Amoxicilina + Ácido Clavulánico
- Enrofloxacina
- Carbapenems (Meropenem, Imipenem)
- Sulfatrimetoprim
- Cefalosporinas
- Otro (Cuál)

OBSERVACIONES

Anexo 3. Formato carta de autorización



Quito, 11 de Marzo de 2015

Srta. Ana Belén Guzmán

Estudiante Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad de las Américas

Presente

Yo, Dr/a Roberto Pérez, Director Médico de la Clínica/Hospital Veterinario “Mi Mascota”, autorizo a usted realizar el procedimiento de toma de muestra en el tubo del circuito de anestesia inhalatoria en este establecimiento veterinario con fin de proveer información para el trabajo de titulación en curso, aceptando la divulgación de los resultados, bajo el acuerdo de confidencialidad firmado.

Atentamente,

Dr/a. Roberto Pérez

Director/a Médico/a

Hospital/Clínica “Mi mascota”

Anexo 4. Formato carta de confidencialidad



Quito, 11 de Marzo de 2015

Dr/a. Roberto Pérez

Director/a Médico/a

Hospital/Clínica “Mi mascota”

Presente

Yo, Ana Belén Guzmán, con cédula de identidad 171596560-2, estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de las Américas me comprometo hacia usted, guardar la información obtenida del muestreo realizado en el tubo de la máquina de anestesia en su establecimiento veterinario, utilizando una codificación que no permitirá conocer el nombre del establecimiento al momento de procesar las muestras, analizar los resultados o presentar las conclusiones y recomendaciones del estudio.

Toda la información obtenida se utilizará como resultados estadísticos, con el único fin de cumplir con la investigación y presentar las conclusiones como un aporte a la Medicina Veterinaria, definiendo parte de la situación relacionada a enfermedades nosocomiales en la Ciudad de Quito.

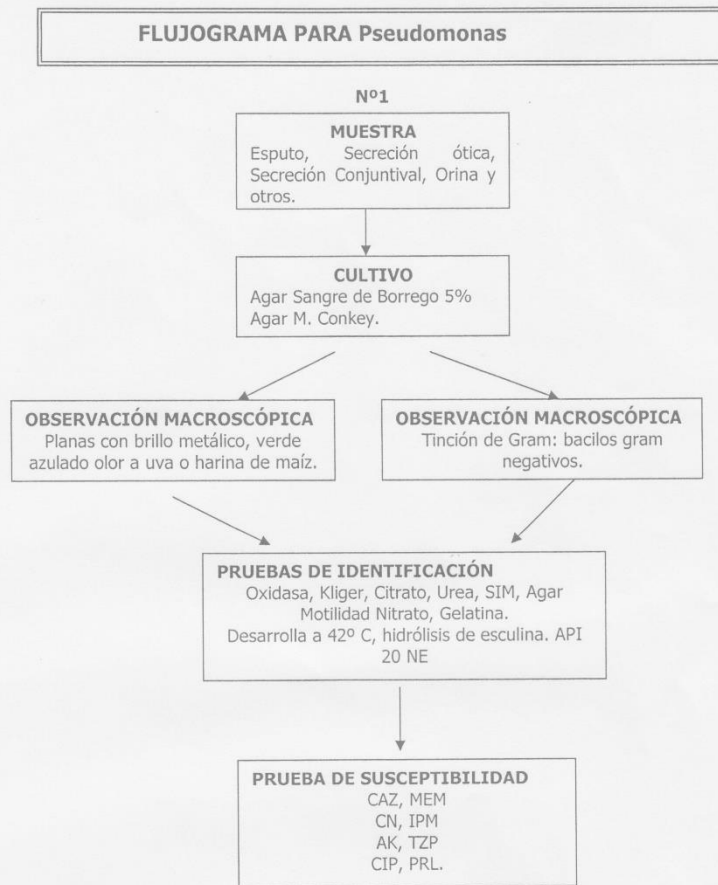
Agradeciendo su ayuda,

Ana Belén Guzmán


Estudiante Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad de las Américas

Anexo 5. Protocolo de Identificación de *Pseudomonas* Hospital Baca Ortiz



Anexo 6. Resultado identificación Hospital Baca Ortiz

Nº de Cliente:	HBO Microbiología Informe clínico	Editado 31-jul-2015 07:43 GMT-05:00																																																																	
Nombre del paciente:		Nº paciente:																																																																	
Localización:		Médico:																																																																	
Nº de examen: AP15		Nº de aislamiento: 1																																																																	
Cantidad de organismo:																																																																			
Organismo seleccionado: Pseudomonas putida																																																																			
Origen:		Recogida:																																																																	
Comentarios:																																																																			
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Información de identificación</td> <td style="width: 30%;">Tiempo de análisis:</td> <td style="width: 20%;">8,00 horas</td> <td style="width: 20%;">Estado:</td> <td style="width: 10%;">Final</td> </tr> <tr> <td>Organismo seleccionado</td> <td>99% Probabilidad</td> <td colspan="3">Pseudomonas putida</td> </tr> <tr> <td>Mensajes de análisis de ID</td> <td>Bionúmero:</td> <td colspan="3">0003011101500250</td> </tr> </table>			Información de identificación	Tiempo de análisis:	8,00 horas	Estado:	Final	Organismo seleccionado	99% Probabilidad	Pseudomonas putida			Mensajes de análisis de ID	Bionúmero:	0003011101500250																																																				
Información de identificación	Tiempo de análisis:	8,00 horas	Estado:	Final																																																															
Organismo seleccionado	99% Probabilidad	Pseudomonas putida																																																																	
Mensajes de análisis de ID	Bionúmero:	0003011101500250																																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Información de sensibilidad</td> <td style="width: 30%;">Tiempo de análisis:</td> <td style="width: 20%;">12,00 horas</td> <td style="width: 20%;">Estado:</td> <td style="width: 10%;">Final</td> </tr> <tr> <td>Antibiótico</td> <td>CMI</td> <td>Interpretación</td> <td>Antibiótico</td> <td>CMI</td> <td>Interpretación</td> </tr> <tr> <td>BLEE</td> <td></td> <td></td> <td>Ertapenem</td> <td>>= 8</td> <td>R</td> </tr> <tr> <td>Ampicilina</td> <td>>= 32</td> <td>R</td> <td>Imipenem</td> <td>1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Ampicilina/Sulbactam</td> <td>>= 32</td> <td>R</td> <td>Gentamicina</td> <td><= 1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Piperacilina/Tazobactam</td> <td>8</td> <td>S</td> <td>Tobramicina</td> <td><= 1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Cefazolina</td> <td>>= 64</td> <td>R</td> <td>Ciprofloxacino</td> <td><= 0,25</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Cefoxitina</td> <td>>= 64</td> <td>R</td> <td>Levofloxacino</td> <td>1</td> <td>S</td> </tr> <tr> <td>Ceftazidima</td> <td><= 1</td> <td>S</td> <td>Nitrofurantoína</td> <td>256</td> <td>R</td> </tr> <tr> <td>Ceftriaxona</td> <td>16</td> <td>R</td> <td>Trimetoprima/Sulfametoxazol</td> <td>160</td> <td>R</td> </tr> <tr> <td>Cefepima</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			Información de sensibilidad	Tiempo de análisis:	12,00 horas	Estado:	Final	Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación	BLEE			Ertapenem	>= 8	R	Ampicilina	>= 32	R	Imipenem	1	S	Ampicilina/Sulbactam	>= 32	R	Gentamicina	<= 1	S	Piperacilina/Tazobactam	8	S	Tobramicina	<= 1	S	Cefazolina	>= 64	R	Ciprofloxacino	<= 0,25	S	Cefoxitina	>= 64	R	Levofloxacino	1	S	Ceftazidima	<= 1	S	Nitrofurantoína	256	R	Ceftriaxona	16	R	Trimetoprima/Sulfametoxazol	160	R	Cefepima					
Información de sensibilidad	Tiempo de análisis:	12,00 horas	Estado:	Final																																																															
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación																																																														
BLEE			Ertapenem	>= 8	R																																																														
Ampicilina	>= 32	R	Imipenem	1	S																																																														
Ampicilina/Sulbactam	>= 32	R	Gentamicina	<= 1	S																																																														
Piperacilina/Tazobactam	8	S	Tobramicina	<= 1	S																																																														
Cefazolina	>= 64	R	Ciprofloxacino	<= 0,25	S																																																														
Cefoxitina	>= 64	R	Levofloxacino	1	S																																																														
Ceftazidima	<= 1	S	Nitrofurantoína	256	R																																																														
Ceftriaxona	16	R	Trimetoprima/Sulfametoxazol	160	R																																																														
Cefepima																																																																			
<p>+ = Antibiótico deducido * = AES modificado ** = Usuario modificado</p>																																																																			
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="2">Conclusiones de AES</td> </tr> <tr> <td>Nivel de confianza:</td> <td>No ha realizado el análisis</td> </tr> </table>			Conclusiones de AES		Nivel de confianza:	No ha realizado el análisis																																																													
Conclusiones de AES																																																																			
Nivel de confianza:	No ha realizado el análisis																																																																		
<p>MEROPENEM = 24 mm AMIKACINA = 23 mm COLISTIN = 16 mm METODO DIFUSION DE DISCO</p> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;">  </div>																																																																			
Página 1 de 1																																																																			

Anexo 7. Anotaciones cultivo *in vitro*.

Muestra 1
16 de Julio 2015

REF. NUM	McConkey				Agar P					Miller-Hinton				Oxid. Cat.	Observaciones	Cuentas Ptas
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
32	X															
17	X															
28	X															
23	X															
20	X				X									X		

CS = Coliformos Sulfuro.

CS P.

Observaciones:
 32: 300 x coloración verde. No
 17: 300 x coloración verde. No
 28: 300 x coloración verde. No
 23: 300 x coloración verde. No
 20: 300 x coloración verde. No
 A: Se nota el crecimiento en el
 B: Se nota el crecimiento en el
 C: Se nota el crecimiento en el
 D: Se nota el crecimiento en el
 E: Se nota el crecimiento en el
 F: Se nota el crecimiento en el
 G: Se nota el crecimiento en el
 H: Se nota el crecimiento en el
 I: Se nota el crecimiento en el
 J: Se nota el crecimiento en el
 K: Se nota el crecimiento en el
 L: Se nota el crecimiento en el
 M: Se nota el crecimiento en el
 N: Se nota el crecimiento en el
 O: Se nota el crecimiento en el
 P: Se nota el crecimiento en el
 Q: Se nota el crecimiento en el
 R: Se nota el crecimiento en el
 S: Se nota el crecimiento en el
 T: Se nota el crecimiento en el
 U: Se nota el crecimiento en el
 V: Se nota el crecimiento en el
 W: Se nota el crecimiento en el
 X: Se nota el crecimiento en el
 Y: Se nota el crecimiento en el
 Z: Se nota el crecimiento en el

Muestra 2
21 de Julio 2015

REF. NUM	McConkey				Agar P					Miller-Hinton				Oxid. Cat.	Observaciones	
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9			10
25	X															
29	X															
15	X				X									X		
12	X															

15: otros tests en McConkey. Hechos tests en grupo Coliformos color verde, otros tests negativos. No fermenta.

Observaciones:
 25: 300 x coloración verde. No
 29: 300 x coloración verde. No
 15: 300 x coloración verde. No
 12: 300 x coloración verde. No
 A: Se nota el crecimiento en el
 B: Se nota el crecimiento en el
 C: Se nota el crecimiento en el
 D: Se nota el crecimiento en el
 E: Se nota el crecimiento en el
 F: Se nota el crecimiento en el
 G: Se nota el crecimiento en el
 H: Se nota el crecimiento en el
 I: Se nota el crecimiento en el
 J: Se nota el crecimiento en el
 K: Se nota el crecimiento en el
 L: Se nota el crecimiento en el
 M: Se nota el crecimiento en el
 N: Se nota el crecimiento en el
 O: Se nota el crecimiento en el
 P: Se nota el crecimiento en el
 Q: Se nota el crecimiento en el
 R: Se nota el crecimiento en el
 S: Se nota el crecimiento en el
 T: Se nota el crecimiento en el
 U: Se nota el crecimiento en el
 V: Se nota el crecimiento en el
 W: Se nota el crecimiento en el
 X: Se nota el crecimiento en el
 Y: Se nota el crecimiento en el
 Z: Se nota el crecimiento en el

Muestra 1
30 de Julio 2015

REF. NUM	McConkey				Agar P					Miller-Hinton				Oxid. Cat.	Observaciones	
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9			10
02	X															
04	X															
27	X															
03	X															
31	X				X									X		

Observaciones:
 31: 300 x coloración verde. No
 A: Se nota el crecimiento en el
 B: Se nota el crecimiento en el
 C: Se nota el crecimiento en el
 D: Se nota el crecimiento en el
 E: Se nota el crecimiento en el
 F: Se nota el crecimiento en el
 G: Se nota el crecimiento en el
 H: Se nota el crecimiento en el
 I: Se nota el crecimiento en el
 J: Se nota el crecimiento en el
 K: Se nota el crecimiento en el
 L: Se nota el crecimiento en el
 M: Se nota el crecimiento en el
 N: Se nota el crecimiento en el
 O: Se nota el crecimiento en el
 P: Se nota el crecimiento en el
 Q: Se nota el crecimiento en el
 R: Se nota el crecimiento en el
 S: Se nota el crecimiento en el
 T: Se nota el crecimiento en el
 U: Se nota el crecimiento en el
 V: Se nota el crecimiento en el
 W: Se nota el crecimiento en el
 X: Se nota el crecimiento en el
 Y: Se nota el crecimiento en el
 Z: Se nota el crecimiento en el

Muestra 1
06 de Agosto 2015

REF. NUM	McConkey				Agar P					Miller-Hinton				Oxid. Cat.	Observaciones	
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9			10
7	X															
8	X															
14	X															
18	X															
5	X															
13	X															

Observaciones:
 13: 300 x coloración verde. No
 A: Se nota el crecimiento en el
 B: Se nota el crecimiento en el
 C: Se nota el crecimiento en el
 D: Se nota el crecimiento en el
 E: Se nota el crecimiento en el
 F: Se nota el crecimiento en el
 G: Se nota el crecimiento en el
 H: Se nota el crecimiento en el
 I: Se nota el crecimiento en el
 J: Se nota el crecimiento en el
 K: Se nota el crecimiento en el
 L: Se nota el crecimiento en el
 M: Se nota el crecimiento en el
 N: Se nota el crecimiento en el
 O: Se nota el crecimiento en el
 P: Se nota el crecimiento en el
 Q: Se nota el crecimiento en el
 R: Se nota el crecimiento en el
 S: Se nota el crecimiento en el
 T: Se nota el crecimiento en el
 U: Se nota el crecimiento en el
 V: Se nota el crecimiento en el
 W: Se nota el crecimiento en el
 X: Se nota el crecimiento en el
 Y: Se nota el crecimiento en el
 Z: Se nota el crecimiento en el

Anexo 8. Boletín Técnico

Resumen

El uso de anestesia inhalatoria en veterinaria permite mejorar las condiciones de tratamiento en los pacientes, sin embargo es importante considerar aspectos importantes si se va a utilizar esta herramienta.

1. Los pacientes con condiciones de salud preexistentes deben ser tratados con mayor cuidado y asepsia al no contar con suficientes defensas propias contra microorganismos a los que son expuestos en ambiente hospitalario.
2. Las mangueras son materiales desechables que de ser usadas continuamente pueden crear ambientes propicios para crecimiento bacteriano.
3. Las infecciones respiratorias crónicas presentan un desafío de salud para el cual es necesario considerar nuevos fármacos antimicrobianos de amplio espectro, además de un antibiograma que determine la sensibilidad de las bacterias a tratar.

Recomendaciones Generales

- Las mangueras del equipo de anestesia, al igual que los tubos endotraqueales son considerados materiales desechables los cuales en caso de ser reutilizados se deben manejar con mucha precaución.
- Neumonías crónicas deben ser analizadas mediante cultivo y antibiograma.
- Verificar periódicamente la eficacia de los métodos de desinfección utilizados en el establecimiento.

Referencias

- Organización Mundial de la Salud
 Greene, D. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. (3a. Ed.). Buenos Aires, Argentina. Editorial Inter-Médica
 Center for Disease Control
 Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinae, A. y Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. (2ª ed.). St. Louis, Estados Unidos: MOSBY ELSEVIER

Ana Belén Guzmán
 Universidad de las Américas
 Facultad de Ciencias de la Salud
 Medicina Veterinaria y Zootecnia
 abguzman@udlanet.ec



Presencia de *Pseudomonas* en circuitos de anestesia inhalatoria

Pseudomonas es un género bacteriano dividido en 5 grupos. *P. aeruginosa* y *P. putida* pertenecen al grupo I de fluorescentes. Son bacilos Gram negativos, multiresistentes a antimicrobianos, desinfectantes, pueden crecer en variedad de climas, incluso en soluciones jabonosas y tienen capacidad de formar biopelículas.

Durante 3 meses en Quito se realizó un estudio en 20 establecimientos veterinarios para determinar la presencia de *P. aeruginosa* en las mangueras de anestesia inhalatoria. Los resultados obtenidos identificaron *Pseudomonas putida* en el 15% de muestras. Además de esta, se encontró presencia de otros géneros bacterianos en las mangueras de anestesia.



Cultivo de *P. putida* en agar P, a las 48 horas de inoculación.

Enfermedades nosocomiales

Las infecciones nosocomiales son infecciones adquiridas en el ambiente hospitalario y consecuencia de contacto con agentes patógenos que se encontraban en el medio, equipos o materiales hospitalarios. Este agente causante de la infección no se encontraba presente antes de la intervención médica en el paciente infectado.

Factores de aumento en la incidencia de infecciones nosocomiales

El riesgo de adquisición de una enfermedad nosocomial en veterinaria se puede asociar a:

- Exposición a agentes patógenos: enterotomías, procedimientos dentales, cateterización, endoscopias, transfusiones, vacunas, entre otras.
- Inmunosupresión: quimioterapia, corticoterapia, irradiación, esplenectomía.
- Nueva tecnología: tratamiento antimicrobiano y resistencia de las bacterias, catéteres permanentes e implantes ortopédicos

Agentes de importancia: *Pseudomonas*

Dentro de los agentes etiológicos de infecciones de más importancia se encuentra el género *Pseudomonas* con su especie más dañina y más estudiada por su dificultad de tratamiento y eliminación del organismo hospedador: *Pseudomonas aeruginosa*. Esta bacteria crece en la naturaleza en varias condiciones, incluyendo en soluciones jabonosas, de clorhexidina y amonio. Son bacterias Gram negativas de resistencia natural a varios antimicrobianos y con gran capacidad de adquirir resistencia a nuevos antimicrobianos.

Pseudomonas y anestesia inhalatoria

Como se menciona anteriormente, se trata de bacterias que crecen en ambientes variados, con mayor capacidad de hacerlo en ambientes húmedos. Las máquinas de anestesia inhalatoria presentan un peligro al tener mangueras que son parte del circuito que entra en contacto con las vías respiratorias de los pacientes. Estas crean un ambiente húmedo dentro de las mismas, además de ser reutilizadas debido al alto costo que significa el desecho después de cada paciente. Aún si se realiza desinfección de las mangueras entre cada paciente, los desinfectantes de uso común en veterinaria, como clorhexidina o amonio, no son los indicados para la eliminación de estas bacterias.

En medicina humana una de las más frecuentes razones de infecciones intrahospitalarias es la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en los materiales para vías aéreas como respiradores, traqueotubos y mangueras de anestesia inhalatoria.

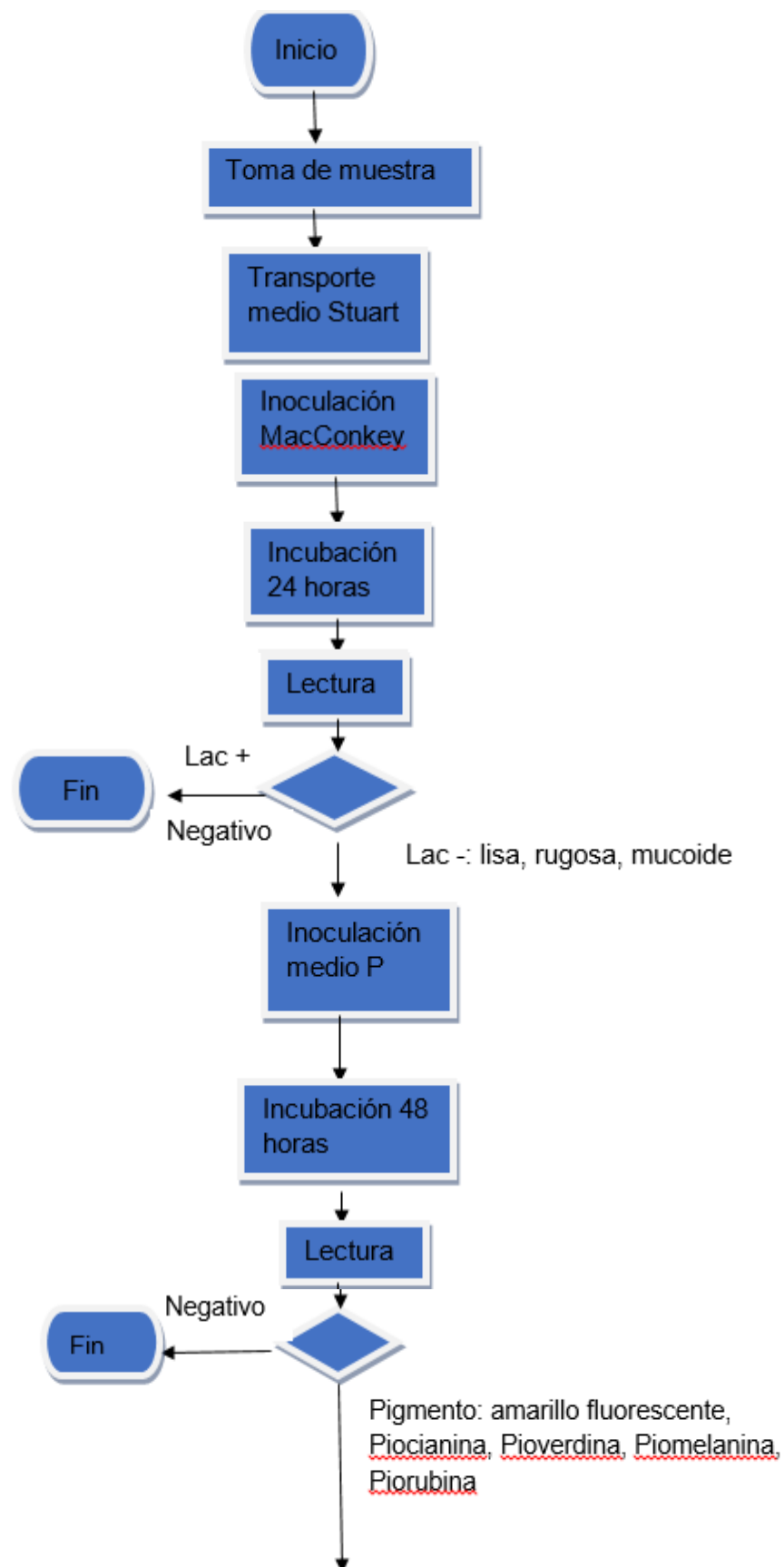
Resultados generales de estudio microbiológico sobre mangueras de anestesia inhalatoria veterinaria en Quito.

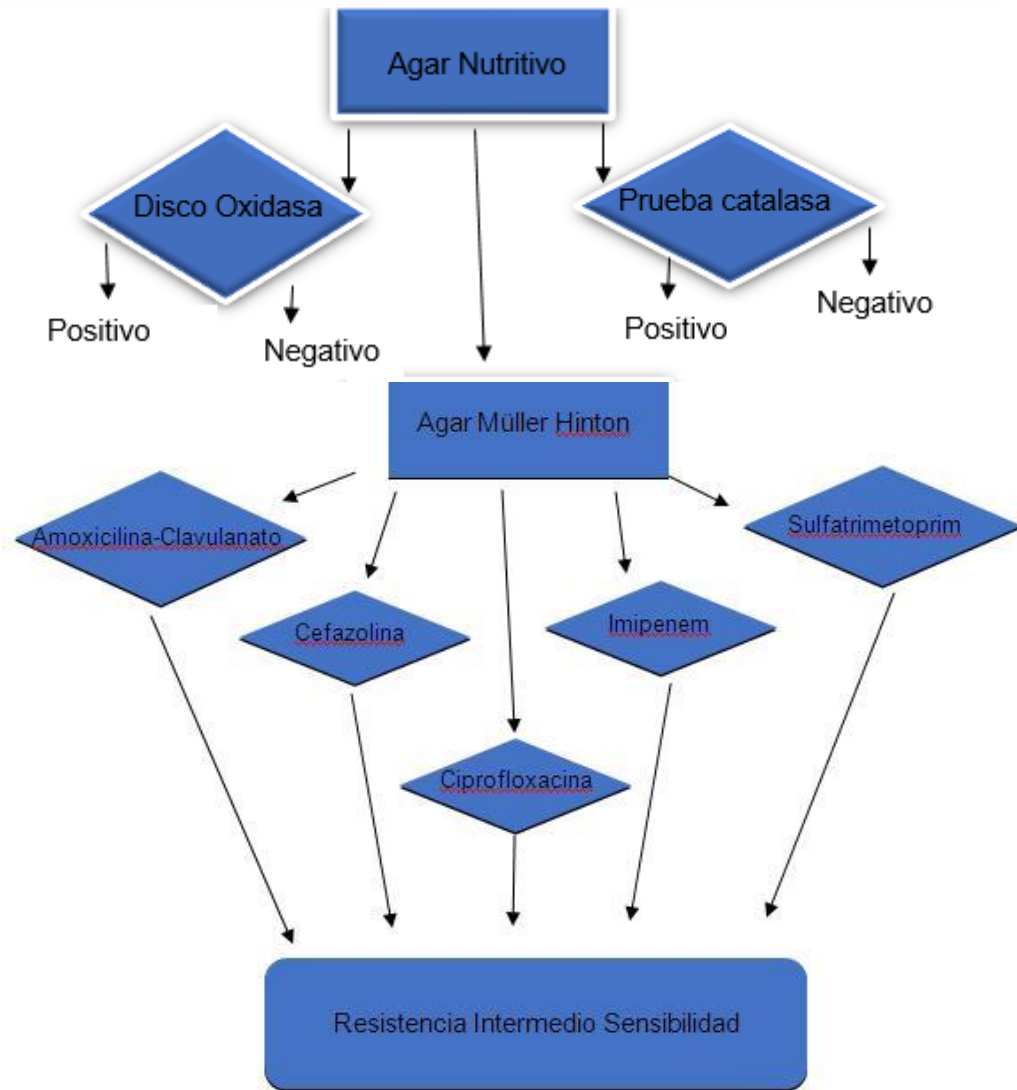


Recomendaciones de desinfección

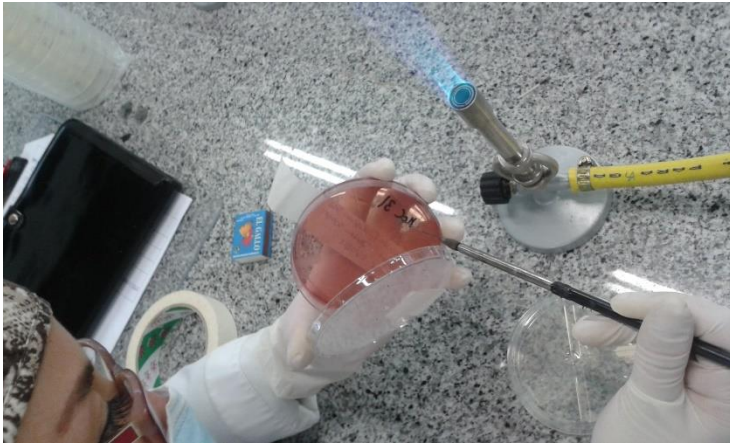
Con los datos del estudio y las características bacterianas encontradas, se probó la eficacia de hipoclorito sódico comercial en concentración de 1:10, sumergiendo en el mismo las mangueras durante 10 minutos. Se eliminó de las mismas toda presencia bacteriana demostrando ser el agente desinfectante de mayor eficacia. A pesar de esto, es una sustancia corrosiva y puede presentar deterioro de las mangueras. Es recomendable el cambio frecuente de las mismas, al ser un material desechable.

Anexo 9. Diagrama de flujo: identificación *Pseudomonas aeruginosa*.

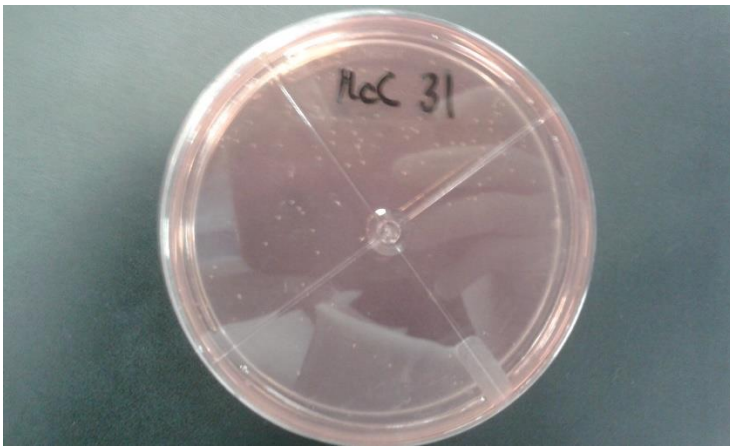




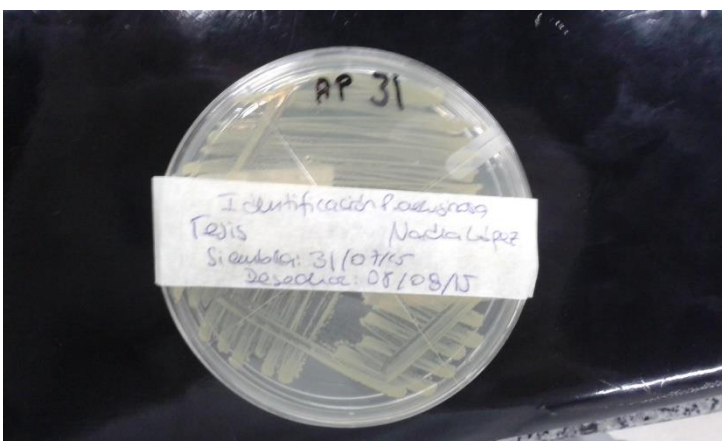
Anexo 10. Fotografías cultivo *in vitro*.



Siembra en Agar MacConkey.



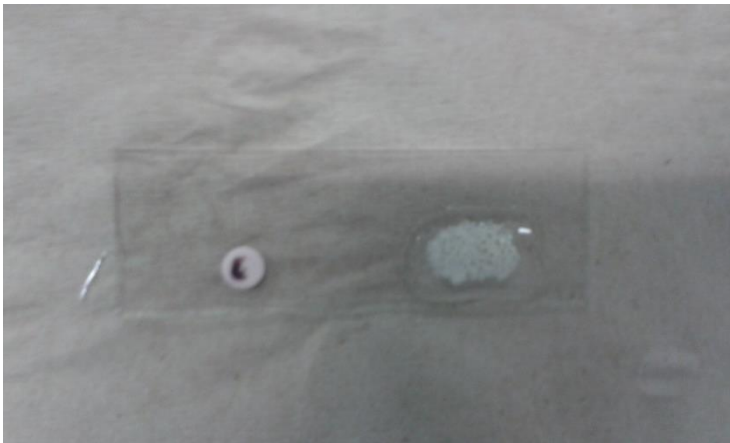
Colonias lactosa negativas en Agar MacConkey a las 24 horas de siembra.



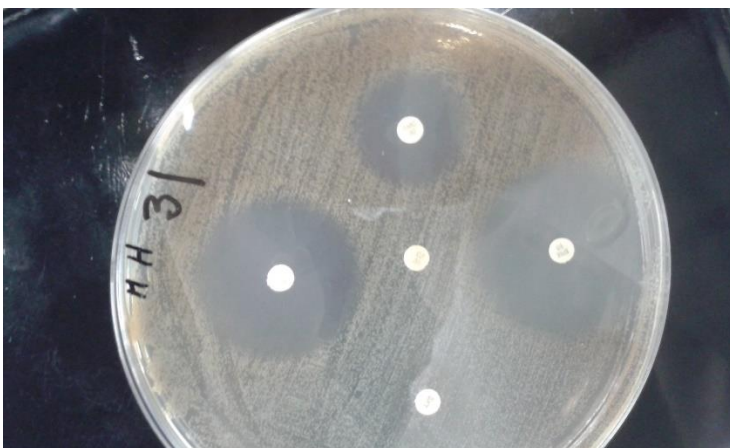
Colonias amarillo fluorescente en Agar P a las 48 horas de siembra.



Colonias amarillo
fluorescente a las 48 horas
de siembra



Reacción oxidasa positiva,
catalasa positiva



Antibiograma con halos de
inhibición en Amoxicilia-
clavulanato, Impipenem y
Ciprofloxacina.



Muestra ATCC para control de calidad en Agar P a las 48 horas de siembra.