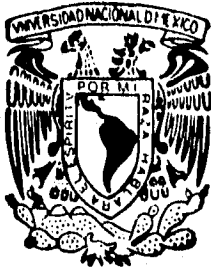


70
Rj



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**ESTUDIOS DE LOS PRINCIPALES
MICROORGANISMOS PATOLOGICOS EN
ENFERMEDADES RESPIRATORIAS SUPERIORES
EN LA POBLACION DE LA UMAI "LOS REYES"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
VIVAR GUZMAN NORMA PATRICIA

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

LO HUBIERO CAS
DE NUESTRA REPLICACION

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLO
EN EL LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO
DE LA UNIDAD MULTIPROFESIONAL DE ATENCION
INTEGRAL "LOS REYES"
BAJO LA DIRECCION DE LA**

Q.F.B. MARTHA PATRICIA OROZCO GOMEZ

y

Q.F.B. ANGEL BARAJAS CHAVARRIA

A mis Padres:

Las personas que más quiero y **admiro**,
Leopoldo Vivar Huerta y Eva **Guzmán Labastida**

Por todo el amor que me han brindado y su apoyo incondicional con el que siempre he contado.

A mis Hermanos:

Alma Rosa, Héctor, Alicia y **Leopoldo**

A mis Sobrinos:

Karla, Rodrigo, Diana y **el Bebe**

Por la dicha contar con una gran **familia**

A mi Esposo

Daniel

Por que gracias a su ayuda que con amor y paciencia me ofreció. **Hoy he llegado a realizar una de mis metas. Este logro es de los dos. TE AMO**

A mis amigos:

Jorge, Rocío, Raul, Clemencia, **María de Jesús, Martha, Ruben, Alvaro y Manuel.**

Por la gran amistad que nos ha unido y que se que siempre contare con ella.

AGRADECIMIENTOS:

Quisiera agradecer de manera especial a la

Q.F.B. Marta Patricia Orozco Gómez y al

Q. F. B. Angel Barajas Chavarria

por las facilidades, interés y ayuda que me brindaron.

A los miembros del jurado:

Q.F.I. Leonor Aguilar Santelises

Q.F.B. Marta Patricia Orozco Gómez

Biol. Guillerma Gonzalez Martinez

M en C. Evangelina López Nieto

Q.F.B. Angel Barajas Chavarria

Por sus valiosas sugerencias, que sin duda contribuyeron a mejorar este trabajo.

Al Q.F.B. Raul López Soriano y Q.F.B. Teresa Rosas Gámez

Por su apoyo y amistad incondicional que me brindan, que es lo más valiosos que pueda existir.

A todas las personas que trabajan en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la UMAI "Los Reyes".

Y a todas aquellas personas que de alguna u otra manera, contribuyeron para la realización de esta tesis.

I N D I C E

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCION.....	2
	2.1 ANTECEDENTES.....	2
	2.2 ANATOMIA Y ESTADO NORMAL DEL TRACTO RESPIRATORIO.....	5
	2.3 INFECCIONES RESPIRATORIAS.....	8
	2.4 CONTROL DE CALIDAD.....	12
III.	FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.....	16
IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
V.	OBJETIVOS.....	19
VI.	HIPOTESIS.....	20
VII.	MATERIAL Y METODOS.....	21
VIII.	RESULTADOS.....	31
IX.	ANALISIS DE RESULTADOS.....	58
	9.1 CONTROL DE CALIDAD.....	58
	9.2 ESTUDIO CLINICO.....	59
X.	CONCLUSIONES.....	63
XI.	RECOMENDACIONES.....	64
XII.	ANEXOS.....	65
XIII.	BIBLIOGRAFIA.....	74

I. RESUMEN

Las infecciones de las vías respiratorias altas continúan siendo la principal causa de morbilidad y, por ello, de consulta en la República Mexicana. A pesar de su elevada frecuencia, de su fácil identificación clínica y de la familiaridad con que las manejan el personal de salud y la población en general, son frecuentemente tratadas en forma errónea, pues no se detecta en forma acertada el agente infeccioso por lo que se abusa de diversos medicamentos, o se utilizan en forma inadecuada.

La Unidad de Atención Integral los Reyes (UMAI "Los Reyes") se encuentra ubicada en el Municipio de los Reyes la Paz Edo. de México. Esta Unidad es una de siete Unidades Multiprofesionales que cuenta la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

En el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Unidad de Atención Integral Los Reyes se realizó un estudio de 294 exudados faríngeos en un lapso de 5 meses a individuos de diferentes edades.

Se aislaron 172 (58.50%) cepas de *Streptococo* α hemolítico, 93 (31.63%) de *Staphylococcus aureus* y 23 (7.83%) de *Staphylococcus epidermidis*, las cuales correspondieron al mayor número de cepas aisladas. Solamente se encontró un solo caso de aislamiento (0.34%) para las siguientes bacterias: *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Streptococo* β hemolítico y micrococcos y 2 (0.64%) para *Klebsiella sp.*

En cuanto a la edad el mayor porcentaje fue para el grupo comprendido entre 0-5 años (31.78%) y el de 6 a 10 años (27.27%), el menor grupo correspondió al de 36 a 40 años (2.97%) y al de 51 a 60 años (2.97%).

La bacteria con mayor porcentaje aislada (31.63%) que se clasificó como bacteria patógena fue *Staphylococcus aureus*, esta bacteria también se encontró en mayor porcentaje (12.71%) en el grupo de edad de 0 - 5 años.

No se observaron diferencias significativas en cuanto al sexo del paciente.

Al realizar los antibiogramas de las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* se encontró que para penicilina y eritromicina existe un elevado porcentaje de resistencia del microorganismo al antimicrobiano 98.1% para penicilina y 92.3% para ampicilina.

Lo que hace suponer la tendencia de la población a automedicarse o seguir un tratamiento con medicamentos incompleto, por lo que se está obteniendo cepas resistentes a más fármacos.

El estudio solamente se hizo para bacterias y hongos, pero se sugiere un estudio completo que incluya la detección de virus, ya que estos son causantes también de enfermedades respiratorias superiores.

Con el exudado faríngeo se puede detectar el agente causante de las infecciones respiratorias y principalmente sus antecedentes de susceptibilidad antimicrobiana.

II. INTRODUCCION

2.1 ANTECEDENTES

La clínica "Los Reyes", perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", se encuentra ubicada en la colonia Valle de los Reyes en el Municipio de los Reyes la Paz Estado de México. A continuación se menciona brevemente la situación socioeconómica del Municipio de los Reyes la Paz, de acuerdo al archivo de la presidencia municipal de Los Reyes la Paz y el archivo del Centro de Salud Urbano Los Reyes.

2.1.1 LOCALIZACION

El Municipio de los Reyes la Paz Estado de México, se extiende en la porción oriental del Valle de México, ligeramente al sur del Vaso de Texcoco. Su cabecera Municipal se ubica a los 19° 21' 26" de latitud norte, y a los 98° 58' 40" de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

2.1.2 EXTENSION

El Municipio de los Reyes la Paz Estado de México tiene una extensión de superficie de 42.2 Km².

2.1.3 LIMITES

Al norte este Municipio limita con los de Nezahualcóyotl y Chimalhuacan. Al sur con el de Ixtapalaca, al este con el de Chimalhuacan y al oeste con el Distrito Federal.

2.1.4 DIVISION POLITICA

El Municipio de los Reyes la Paz integra su territorio por las siguientes delegaciones: Magdalena Atlixpac, San Sebastián Chimalpa y Tecamachalco.

Los Reyes a su vez se divide en diferentes colonias:

1. Valle de los Reyes 1a. y 2da. sección
2. Magdalena de los Reyes
3. Unidad Floresta
4. Valle de los Pinos
5. Fraccionamiento Floresta
6. Ampliación los Reyes
7. San Miguel Teotongo
8. Emiliano Zapata

2.1.5 CLIMA

El clima que predomina en el Municipio de los Reyes es el de templado seco, con una temperatura media anual de 17.5°C, en los meses de Enero y Mayo es cuando se registran las temperaturas más extremas. Los vientos dominantes llegan al Municipio del norte y del este, debido a que el Municipio esta dentro del vaso de Texcoco, los vientos van acompañados de partículas de polvo provocando grandes torvaeras.

2.1.6 SERVICIOS EN LA COMUNIDAD

2.1.6.1 AGUA

El abastecimiento de agua hacia toda la población del Municipio resulta insuficiente en algunas colonias, y para cubrir las demandas se utiliza el sistema de reparto por pipas por parte del gobierno y por particulares.

El cálculo aproximado de agua según las autoridades para cubrir las necesidades de dicha población es de 24 836 550 litros por día, en ocasiones para llegar a cubrir esta cifra, el agua es obtenida a través del Municipio de Netzahualcóyotl y de ocho pozos localizados en el propio Municipio de los Reyes.

El 95% de la población cuenta con agua potable, el 32% tiene agua intradomiciliaria, el 26% tiene agua fuera de su vivienda y el 37% restante se abastece de las pipas, por último el 5% carece de agua potable.

2.1.6.2 DRENAJE

El sistema de alcantarillado del Municipio esta planeado para recibir las aguas negras y precipitación pluvial, esta agua es drenada a diez grandes colectores de 400 hectáreas cada una.

Un 82.57% de la población cuenta con drenaje, un 10.69% con fosas sépticas y un 6.7% con letrina.

2.1.6.3 ALUMBRADO PUBLICO

De los 135 000 lotes que se encuentran en el Municipio, el 75% tiene energía eléctrica colocada por la compañía de luz y fuerza, el 25% restante la tiene en forma provisional.

Existe alumbrado público en un 60% del Municipio, esta energía proviene de dos subestaciones, una localizada en Netzahualcóyotl y otra en el mismo Municipio de los Reyes la Paz.

2.1.6.4 SERVICIO DE LIMPIEZA

Para la eliminación de basura se cuenta con camiones recolectores, y estos depositan la basura en los tiraderos de los ejidos de Santa Catarina. Un porcentaje menor de la población carece de servicios de limpia por los camiones recolectores, y para eliminar la basura la tiran a la calle o lotes baldíos.

2.1.6.5 PAVIMENTACION

Un 60% de la vialidad cuenta con pavimentación, todo lo demás es terracería y otras están en regulares condiciones.

2.1.6.6 VIVIENDA

En este Municipio existe demanda de vivienda, debido al flujo de inmigrantes y a la cantidad de familias que llegan al Municipio que cada día es mayor, esto se da por la llegada de familias de diferentes estados de la república, predominando las familias de Michoacán, Guerrero, Guanajuato, Puebla, Tlaxcala e Hidalgo. Una vez establecidas estas familias predomina el hacinamiento y promiscuidad.

La mayoría de estas familias no tienen vivienda propia, sino que "rentan" o bien se incorporan con familias ya establecidas. El material de construcción de sus viviendas varía, utilizando materiales como tabique, cemento, lámina de asbesto, cartón, plástico o metal.

2.1.6.7 GRADO ESCOLAR

A continuación se describe el porcentaje de la población, según su grado de estudio, y si sabe leer y escribir.

PORCENTAJE DE ESCOLARIDAD EN LA POBLACION DE LOS REYES LA PAZ

GRADO ESCOLAR	PORCENTAJE
Saben leer y escribir	15.6
Tercer grado de primaria	11.7
Primaria completa	20.6
Secundaria completa	20.0
Bachillerato	6.9
Profesional	3.1
Analfabetas	3.2
Otros	18.9

Cuadro N° 1

FUENTE

1. Archivo de la presidencia municipal de Los Reyes la Paz
2. Archivo del Centro de Salud Urbano Los Reyes.

2.1.7 SERVICIOS DE SALUD

Los servicios de salud que se encuentran en el Municipio de los Reyes son: Cuatro centros de salud, un Hospital Regional del IMSS, una Clínica de la Cruz Roja y la Unidad Multiprofesional de Atención Integral Los Reyes. Además de una elevada cantidad de consultorios y clínicas particulares.

Los Reyes cuenta con dos hospitales generales de la Secretaría de Salud, aquí son remitidos aquellos pacientes que necesiten el servicio en las principales enfermedades de asistencia a la salud como son:

1. Enfermedades de la piel
2. Infecciones respiratorias agudas
3. Anibiasis
4. Síndrome diarreico
5. Hipertensión arterial
6. Diabetes mellitus

FUENTE

1. Archivo de la presidencia municipal de Los Reyes la Paz
2. Archivo del Centro de Salud Urbano Los Reyes.

2.2 ANATOMÍA Y ESTADO NORMAL DEL TRACTO RESPIRATORIO

El tracto respiratorio (Fig. N° 1) comienza en el pasaje nasal u oral y se extiende a través de la nasofaringe y orofaringe hasta la tráquea y luego hacia los pulmones. La tráquea se divide en bronquios que se subdividen en bronquiolos, cuyas ramificaciones más pequeñas terminan en los alvéolos.⁴¹

La función principal del aparato respiratorio es la del intercambio gaseoso, aunque también desarrolla otras funciones no menos importantes como son el mantenimiento de los equilibrios hidroelectrolítico y ácido-base, la fonación, sirve como barrera de defensa contra agentes nocivos del ambiente, la de sintetizar y metabolizar sustancias y servir como reservorio sanguíneo.¹³

La vía aérea es el enlace entre las unidades respiratorias pulmonares y el mundo exterior; se le subdivide en dos porciones principales, la superior y la inferior. La parte superior está constituida por la nariz, la cavidad oral y la faringe; la parte inferior la forma la laringe, la tráquea y el árbol bronquial.¹³

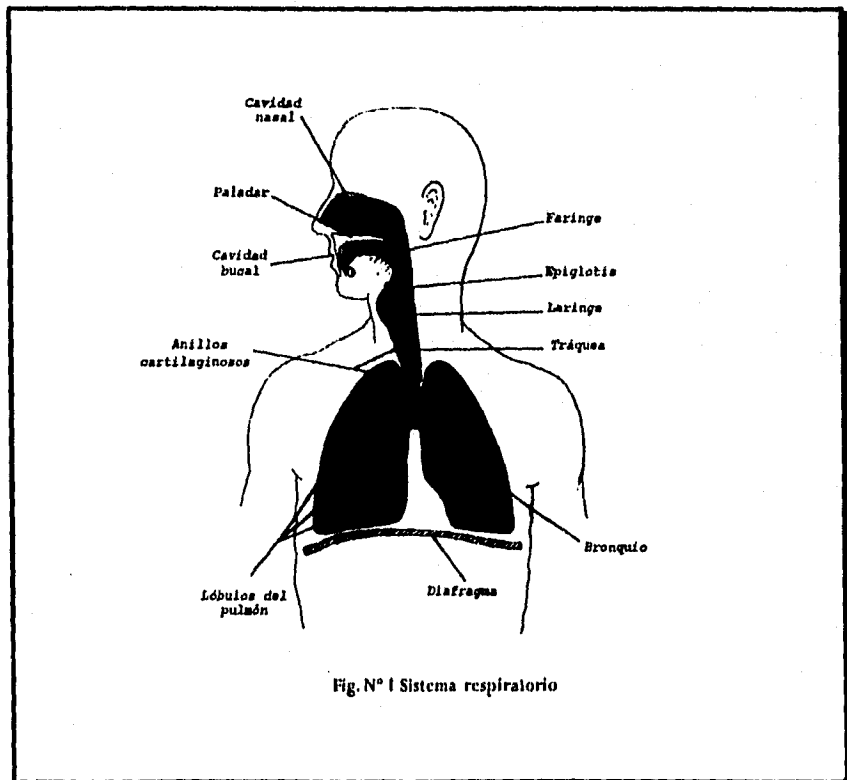


Fig. N° 1 Sistema respiratorio

2.2.1 VIA RESPIRATORIA SUPERIOR

La faringe o garganta es un conducto de forma un tanto ahusada y unos 13 cm de longitud, que se inicia en las coanas y sigue un trayecto descendente en una parte del cuello. Se sitúa justo por detrás de la cavidad nasal y la boca, y por delante de las vértebras cervicales.

La porción media de la faringe o bucofaringe se sitúa por detrás de la boca. En ella, se localizan dos pares de tonsilas (amígdalas), las palatinas y linguales.⁴¹

Las amígdalas son parte del conjunto de tejido linfático llamado anillo de Waldeyer, que rodea la naso y orofaringe y sirve como órgano protector. Al igual que todo el anillo de Waldeyer, las amígdalas son tejido linfóide de importancia inmunológica, produciendo desde el nacimiento diversos tipos de células que desempeñan funciones de inmunidad, tanto celular como humoral y debido a su situación anatómica constituye la primera defensa frente a diversos antígenos bacterianos y vírales.⁴⁴

2.2.2 FLORA MICROBIANA DEL TRACTO RESPIRATORIO

Desde tiempos atrás, se conoce que un huésped sano puede soportar la presencia de diversos microorganismos que residen en piel y membranas mucosas, a este concepto se le da el término de "Flora microbiana normal".²⁰

La piel y las mucosas hospedan siempre a una gran variedad de microorganismos, los cuales pueden ser divididos en dos grupos:

1. La flora residente está compuesta de tipos relativamente fijos de microorganismos, los cuales se encuentran constantes en un sitio dado a una edad dada, si se les trastorna, se restablece espontáneamente con rapidez.²⁰

2. La flora transitoria está formada por microorganismos no patógenos o sólo potencialmente patógenos hospedados en la piel o las mucosas durante horas, días o semanas; provienen del ambiente, no producen enfermedad, y no se establecen por sí mismas permanentemente sobre la superficie. Si la flora residente sufre alteraciones los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar y producir enfermedad.

Los microorganismos de la flora normal residente son inocuos y pueden ser benéficos en su localización normal en el huésped y en ausencia de anomalías coincidentes.²⁰

La entrada de componentes ambientales a la mucosa de la luz del sistema respiratorio es prácticamente constante. Estos componentes pueden ser materiales biológicamente inertes en el sujeto, como son algunos gases atmosféricos, partículas de polvo o aun esporas y pólenes; sin embargo también se puede inhalar agentes con potencial infeccioso, como son algunos virus, bacterias, protozoarios o esporas de hongos. Desde luego, esta colonización es con frecuencia el primer estadio en el proceso infeccioso de agentes que más tarde invaden otros tejidos u órganos de la economía, sin embargo la mayoría de los agentes sólo establecen relaciones de tipo comensalista.²⁰

2.2.3 PROTECCION LOCAL

La protección contra los agentes físicos, químicos y biológicos potencialmente patogénicos que tienen acceso a la mucosa respiratoria, se lleva a cabo en acontecimientos consecutivos que actúan en forma concomitante, y que están divididos en tres etapas:

Primera etapa: Son los mecanismos no inducibles, sin especificidad y sin memoria. Las barreras anatómicas constituidas por la continuidad de la mucosa respiratoria, la secreción de moco y sustancias microbiostáticas y microbicidas inespecíficas y el movimiento de los cilios, actúan de modo permanente y favorecen la limpieza constante del árbol respiratorio. La forma como estos elementos funcionan contra los componentes particulados es que éstos son atrapados por las secreciones mucosas y luego removidos mecánicamente, lo cual se lleva a cabo en forma continua a través del movimiento mucociliar y reforzado por los reflejos de la tos y el estornudo. Las partículas de 10µm o mayores no sobrepasan las partes superiores del aparato respiratorio, las menores de 10µm y de hasta 2µm se retienen en el árbol bronquial y sólo las menores alcanzan los alvéolos.

Segunda etapa: Son los mecanismos inducibles, pero sin especificidad ni memoria, y que pueden agruparse dentro del proceso conocido como inflamación. Esta se lleva a cabo mediante cascadas de activación de moléculas plasmáticas y la participación celular a través de la producción de mediadores, iniciados por los estímulos proporcionados por la sola presencia de los agentes o de sus productos (lipopolisacáridos, péptidos formilados, exotoxinas, etc.)

Tercera fase: Esta es inducida, específica y con memoria, y corresponde a la respuesta inmunológica, la cual participa con una extraordinaria eficiencia en la protección debido a la direccionalidad que le da su especificidad y por su capacidad de amplificar notablemente los mecanismos no específicos antes mencionados. Esta respuesta manifiesta dos grandes grupos de mecanismos efectores, los humorales mediados por anticuerpos, y los celulares donde participan linfocitos T y sus subpoblaciones.¹³

2.3 INFECCIONES RESPIRATORIAS

Patogenia y Fisiopatología

Las enfermedades infecciosas de las vías respiratorias son sumamente raras cuando los mecanismos de protección respiratoria funcionan adecuadamente. La gran eficiencia en los mecanismos de transmisión de los agentes patógenos respiratorios y la importancia de la integridad de los procesos locales de protección, se ponen de manifiesto cuando en una comunidad aparece inusualmente un nuevo agente con una elevada patogenicidad o al analizar el número de casos que se presentan en poblaciones debilitadas, sea por deficiencias nutricionales, por algún estado de incompetencia inmunológica, por los efectos del estrés y resistencia a los antibióticos. En forma individual también, se puede observar este incremento en la susceptibilidad por los factores mencionados y también, por una infección viral muy benigna y autolimitada, pero a menudo favorece la superinfección bacteriana oportunista, sobre todo en neonatos, ancianos y sujetos debilitados.¹³

PROCESO INFECCIOSO

El término infección indica multiplicación de bacterias. Antes de la multiplicación, las bacterias deben entrar y establecerse dentro del huésped. La puerta de entrada es la boca y nariz. Una vez en el cuerpo, las bacterias deben adherirse a las células del huésped.²⁰

Adherencia

El acontecimiento inicial de la mayor parte de las infecciones respiratorias, es la adherencia del agente a las células epiteliales de las superficies mucosas. Los agentes que carecen de esta capacidad se comportan igual que cualquier partícula inerte y son fácilmente eliminados. En consecuencia, la diferencia entre los agentes comensales y los patógenos es que para los primeros la adherencia es el único fenómeno que tiene que ocurrir para que colonice la mucosa, en tanto que para los segundos, esa adherencia es el paso inicial antes de comenzar la producción de toxinas (*Bordetella pertussis*, por ejemplo), para penetrar en la célula a la que se ha adherido (virus de la influenza) o para invadir el tejido (*Streptococcus pneumoniae*).¹³

Después de que las bacterias han establecido un sitio primario de infección, se multiplican y dispersan. La infección puede dispersarse en forma directa a través de los tejidos, o por medio del sistema linfático al torrente sanguíneo.

Invasión de células y tejidos del huésped

Para muchas bacterias patógenas, la invasión del epitelio del huésped es fundamental para el proceso infeccioso. Algunas bacterias invaden tejido a través de las uniones entre células del epitelio. Otras bacterias penetran a la célula epiteliales del huésped y a continuación pasan al tejido. Una vez dentro de la célula huésped, las bacterias permanecen encerradas en una vacuola formada por membranas de la célula huésped o la membrana de la vacuola se disuelve y las bacterias pueden dispersarse en el citoplasma.

Toxinas

La producción de toxinas y otras propiedades de virulencia, en general son independientes de la capacidad de las bacterias para invadir células y tejidos. Las toxinas producidas por bacterias, por lo general se clasifican en dos grupos: exotoxinas y endotoxinas.

1. Exotoxina. Excretadas por células vivientes. *Corynebacterium diphtheriae* es un bacilo grampositivo que puede proliferar en las membranas mucosas de las vías respiratorias superiores. Las cepas de *Corynebacterium diphtheriae* portadores de un bacteriófago moderado con el gen estructural para la toxina, son toxígenas y sintetizan la toxina de la difteria.

2. Endotoxina. Parte integral de la pared celular de bacterias gramnegativas. Liberadas durante la muerte bacteriana, y en parte, en el crecimiento.

Enzimas

Muchas especies de bacterias producen enzimas que de manera intrínseca no son tóxicas, pero que tienen papeles importantes en el proceso infeccioso. A continuación se describen algunas de ellas.

A. Enzimas que degradan tejidos.

1. Coagulasa: *Staphylococcus aureus* produce coagulasa, que actúa junto con factores séricos para coagular el plasma. La coagulasa contribuye a la formación de paredes de fibrina alrededor de las lesiones estafilocócicas, que contribuyen a la persistencia de los estafilococos en los tejidos.

2. Hialuronidasas. Son enzimas que hidrolizan al ácido hialurónico, un constituyente de la matriz del tejido conectivo. (ejemplo: estafilococos, estreptococos)

3. Estreptocinasa. Muchos estreptococos hemolíticos producen estreptocinasa, sustancia que activa a una enzima proteolítica del plasma.

B. Proteasa que degrada IgA. La inmunoglobulina A (IgA) es el anticuerpo secretorio de las superficies mucosas. Tiene dos formas primarias, IgA1 e IgA2. Algunas bacterias causantes de enfermedad, producen enzimas que inciden a IgA1 e inactivan su acción de anticuerpo. La proteasa contra IgA1, es un factor importante de virulencia de los microorganismos patógenos *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.²⁰

El término infecciones respiratorias engloba una gran cantidad de entidades clínicas y cuadros nosológicos de diversa etiología.³⁵

Las infecciones respiratorias se dividen por lo general en dos grupos principales: las del aparato respiratorio superior y las del aparato respiratorio inferior, estas comprenden todos los trastornos del tracto respiratorio por debajo de la epiglotis.³³

Las infecciones de las vías respiratorias se presentan a menudo como rinfaringitis, faringoamigdalitis, laringotraqueítis aguda, epiglotitis, bronquitis y neumonía; las complicaciones sépticas incluyen meningitis, empiema, peritonitis y endocarditis. Las infecciones por estreptococo (beta hemolítico) + grupo A pueden conducir a fiebre reumática y glomerulonefritis aguda.³⁶

A las inflamaciones de las glándulas linfáticas faríngeas se les denomina amigdalitis, y estas pueden ser causadas por diversos agentes patógenos provocando infecciones agudas o crónicas.

Anatómicamente es muy difícil distinguir una faringitis de una amigdalitis y debido a que los agentes etiológicos son los mismos una infección puede llevar a la otra, algunos autores hablan indistintamente de una faringitis y de una amigdalitis. Otros más hablan de faringoamigdalitis, entendiéndose por ésto como la inflamación tanto de la faringe como de las amígdalas.⁴⁴

La faringoamigdalitis es una enfermedad que se caracteriza por la inflamación del tejido que se encuentra entre la cavidad de la boca y la faringe, razón por la cual las zonas de lesión abarca las amígdalas y la faringe.

Las causas más comunes de dicho padecimiento son infecciones e irritaciones. En el primer caso los gérmenes que con mayor frecuencia están presentes son virus, bacterias y algunos hongos. En el caso de las irritaciones, el tabaquismo y la contaminación provocan faringitis crónica.

Las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA), son todo cuadro clínico que tenga desde su inicio hasta quince días de evolución y, en el que se presenta uno o más signos o síntomas. Las IRA se dividen en dos grupos principales: infecciones del tracto respiratorio superior y las del tracto respiratorio inferior; sin embargo, con frecuencia tanto el tracto respiratorio superior como el inferior se ven afectados de manera simultánea o consecutivamente.

Las IRA constituyen en México el rubro de enfermedades más frecuentes notificado, y las formas graves son causa de un gran número de defunciones, particularmente en los niños menores de cinco años.^{11,13,31,37}

Por el momento, las medidas de inmunización preventiva contra las infecciones respiratorias son bastante limitadas. Las vacunas antiosférica, antidiéfrica y antituberculosa son las únicas de tipo bacteriano ampliamente utilizadas.³³

Las vacunas inactivadas contra el virus sincitial respiratorio y la parainfluenza que se han probado hasta ahora no previenen las infecciones y pueden exacerbar la enfermedad.³³

No hay pruebas de la eficacia de los agentes antimicrobianos usados en forma profiláctica, excepto en unas pocas indicaciones, tales como el uso de la penicilina o eritromicina para personas con riesgo especial de infección estreptocócica recurrente y el tratamiento profiláctico perjudican porque tienden a que predomine los microorganismos gramnegativos y resistentes a las drogas, aumentando el riesgo de superinfección por esos agentes.³³

Se considera posible lograr una disminución de las tasas de mortalidad proporcionando atención primaria familiar y atención médica oportuna.

Estas acciones deben efectuarse coordinadamente en los diferentes niveles de atención y en todas las instituciones del sector salud, de acuerdo a un programa de atención prioritario al niño menor de cinco años.

Dado que el área de microbiología en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la UMAI los Reyes es una sección que recientemente abrió su servicio se implementó un programa de control de calidad, por lo que el también se incluye apartados que tratan este tema.

2.4 CONTROL DE CALIDAD

Considerando la importancia que representa el control de calidad de los medios de cultivo, herramienta clave en las determinaciones microbiológicas, así como también todo aquel material y soluciones empleadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos, que impliquen un proceso de esterilización, es necesaria determinar la confiabilidad de los mismos.

Así mismo se necesita conocer qué grado de seguridad de esterilidad proporcionar a todo material, reactivos o equipo sometidos al proceso.

Existen diferentes procesos de esterilización entre los cuales se encuentran los procesos por calor (húmedo y seco), los procesos de filtración, los de radiación y los procesos con gas, entre otros.

En el área de Análisis Clínicos el proceso más utilizado debido a su rapidez, espacio, confiabilidad y a que la mayoría del equipo a esterilizar permite este procedimiento, es el de calor húmedo llevado a cabo generalmente en autoclave o una olla express dependiendo de las condiciones del laboratorio.

Debido a la gran importancia de este equipo es importante realizar un estudio de calificación del proceso, cuyo desarrollo mediante experimentos documentados permite determinar si el proceso da lugar a un producto con los atributos de calidad deseados.

La calificación de un ciclo de esterilización por vapor depende del equipo usado. El autoclave y el sistema de soporte son calificados para dar el ciclo repetidamente y consistentemente. La calificación del equipo esta compuesta por el propio diseño, la instalación según el diseño y las pruebas operacionales para asegurar que el criterio del diseño y especificaciones son satisfactorias.

El programa de validación comprende las siguientes fases:

- 1.- Calificación de documentación.
- 2.- Calificación del equipo.
- 3.- Calificación operacional.

1.- Calificación de Documentación.

Los principales documentos a calificar son los procedimientos de operación, limpieza y mantenimiento.

2.- Calificación del equipo.

2.1 Calificación de instalaciones.

Es la verificación documentada de que todos los aspectos principales de la instalación se apeguen a los códigos apropiados, diseño autorizado y recomendaciones del fabricante.³⁴

2.2 Calibración de Instrumentos.

Conjunto de operaciones que tienen por finalidad determinar los errores del instrumento para medir y de ser necesario, otras características metrológicas, así como en su caso ajuste correspondiente.

3.- Calificación operacional.

Verificación documentada de que un sistema o subsistema realiza su propósito como se desea, en un intervalo de operación aprobado.³⁴

Las pruebas a desarrollar para verificar la calificación operacional son las siguientes: Distribución de Calor, Penetración de calor y el Biodesafío.

3.1 Distribución de calor.

Son estudios para verificar la aceptabilidad de un recipiente que provee un medio de calentamiento uniforme.⁶

Los estudios de distribución de calor incluyen 2 fases. La primera es la distribución de calor en cámara vacía, y la segunda es la distribución de calor en cámara con carga.²⁶

3.1.1 Distribución de calor en cámara vacía.

Como se mencionó anteriormente, estos estudios sirven para verificar la capacidad del autoclave para distribuir de manera uniforme el calor y por lo tanto la detección de un punto frío o zona fría dentro de la cámara del autoclave. El punto frío es el sitio, donde se recibe menos calor con respecto a los otros sitios evaluados en un intervalo definido de tiempo.^{6,26,43}

3.1.2 Distribución de calor en cámara con carga.

Este estudio se hace con la finalidad de ver el efecto de la carga en el punto frío, y esto, es muy importante, ya que en los estudios de penetración de calor se da seguimiento al material que se localiza en el punto frío obtenido.^{6,26}

3.2 Penetración de Calor.

Esta es la parte más crítica de la validación, debido a que los estudios de penetración de calor se llevan a cabo para asegurarse que el sitio más frío dentro del patrón de carga estará expuesto consistentemente a la suficiente letalidad por calor, el punto más frío es el que previamente se determina de los estudios de distribución de calor.⁶

3.3 Biodesafío

El desafío biológico es empleado para demostrar el grado de letalidad suministrado por el ciclo de esterilización.⁶ Para este propósito, se utilizan indicadores biológicos certificados que se adquieren en el mercado. Ejemplos:

- Duo-Spore (Indicator to determine efficiency steam sterilization):

Organismos:	Concentración
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	7.4×10^4
<i>Bacillus subtilis</i>	3.7×10^5

- Sterikon:

Organismos:	Concentración
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	2×10^3

- Proof-plus:

Organismos:	Concentración
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	1.6×10^4
<i>Bacillus subtilis</i>	2.1×10^6

El microorganismo utilizado más frecuentemente para desafiar el proceso de esterilización con vapor, es *Bacillus stearothermophilus*, por su alta resistencia a sobrevivir al calor húmedo.

2.4.1 INDICADORES BIOLÓGICOS

Un indicador biológico es una preparación caracterizada de un microorganismo específico resistente a un proceso de esterilización en particular. Los indicadores biológicos se utilizan como auxiliares en la operación de calificación física de aparatos de esterilización, en desarrollo y establecimiento de un proceso de esterilización validado para un producto, en la verificación periódica de esterilización validado para un producto, en la verificación periódica de esterilización validado de equipo, materiales y componentes de empaque que se emplea en procedimientos asepticos y en programas de verificación periódica de ciclos de esterilización previamente establecidos y documentados.

Los indicadores biológicos pueden presentarse principalmente en dos formas en las cuales se utiliza un cultivo de un microorganismo de una especie conocida. En una de las presentaciones las esporas se adicionan a un soporte (disco o tira de papel filtro, vidrio o plástico) y se empaqueta tanto para mantener la integridad del soporte inoculado, como para permitir que el agente esterilizante ejerza su efecto sobre el empaque individual. Otra presentación es cuando las esporas se agregan a unidades representativas del lote por esterilizar (producto sin inocular) o a unidades similares; el producto inoculado no debe afectar negativamente las características de germinación de las esporas viables. Cuando el producto por esterilizar es un líquido, en el cual no es práctico adicionar el indicador biológico a las unidades seleccionadas, las esporas viables pueden agregarse a un producto simulado cuya resistencia al proceso de esterilización no debe diferir a la presentada por el producto a esterilizar.

Para utilizar efectivamente un indicador biológico, se debe tener un conocimiento completo del producto a esterilizar y de sus componentes (materiales y empaques), y tener una idea general del número y tipos de microorganismos que constituyen la carga microbiana presente en el producto antes de la esterilización. Cuando un producto es más sensible a la esterilización se debe realizar una evaluación más extensa de la carga microbiana. La selección del indicador biológica es crítica y requiere del conocimiento de su resistencia al proceso específico de esterilización, de tal manera que cuando es

utilizado bajo características de operación representa un desafío al proceso de esterilización que excede al reto de la carga microbiana natural presente en el producto. Las esporas seleccionadas para utilizarse como indicadores biológicos de un proceso en particular no necesariamente son adecuados para emplearse en diferentes condiciones del mismo o en otros procesos de esterilización.

En los procesos de esterilización por vapor a ciertas temperaturas se emplean comúnmente esporas de cepas apropiadas de *Bacillus stearotherophilus*, debido a la resistencia que presentan a esta forma de esterilización. En los procesos de esterilización por calor seco u óxido de etileno, se emplean comúnmente esporas de una subespecie de *Bacillus subtilis*. Las esporas de cepas de *Bacillus pumilus*, han sido utilizadas como indicadores biológicos para verificación periódica de procesos de esterilización por radiaciones ionizantes.¹⁰

III. FUNDAMENTACIÓN DE LA ELECCIÓN DEL TEMA.

En determinadas circunstancias, por razones desconocidas -tal vez debido a un daño previo causado por una infección viral o por pérdida de cierta inmunidad por parte del huésped o por daño físico del epitelio respiratorio (p. ej., por el cigarrillo)- los microorganismos causan enfermedad.³⁷

La faringoamigdalitis es una enfermedad muy contagiosa a la que la favorecen la desnutrición, la respiración deficiente por la nariz, la contaminación ambiental, cambios de clima y la concurrencia a lugares públicos como escuelas, oficinas, transportes y salas de espectáculos.

Si bien no todos somos susceptibles de padecer faringoamigdalitis, aquellos individuos más sensibles, como los niños, le aquejarán con mayor frecuencia.⁹

Son numerosos los microorganismos capaces de colonizar las vías respiratorias superiores. La flora normal de esta región suele estar formada por estafilococos, estreptococos, bacilos difteroides, y cocos Gram negativos; sin embargo en determinados momentos, sea por algún proceso inflamatorio de tipo alérgico o infeccioso viral (ejemplo: Influenza, Syncytial respiratorio, Parainfluenza), disminución de las defensas de la persona, se presenta colonización de cepas con mayor virulencia.¹⁹

Las infecciones respiratorias agudas incluyen un grupo complejo y heterogéneo de condiciones causadas por un gran número de agentes etiológicos y caracterizados por una amplia variedad de manifestaciones clínicas.⁴⁰

La flora de la región faríngea presenta problemas peculiares para el aislamiento e identificación de microorganismos, tanto por lo que se refiere a los componentes de la flora normal como a microorganismos con acción patogénica. Es importante recordar que algunos microorganismos tienen capacidad patogénica definida y su presencia es un indicio claro de enfermedades, en tanto que otros, los llamados "oportunistas" guardan una posición ambigua y pueden encontrarse tanto como componentes de la flora normal, como asociados a procesos patológicos, causados por otros microorganismos que son los verdaderos responsables (por ejemplos virus). Los métodos utilizados deben seleccionarse de tal manera que permitan tanto el aislamiento de microorganismos Gram positivos como de Gram negativos, además de detectar algunos otros agentes específicos de enfermedades. La selección de un esquema de aislamiento e identificación se deben llevar a cabo de acuerdo con las necesidades y la orientación proporcionada por el clínico, o bien de manera que permitan un examen amplio de la flora faríngea.²⁹

El aislamiento de Gram positivos se debe orientar al cultivo de estreptococos y estafilococos, y determinación de sus características de hemólisis.

En el exudado faríngeo es posible encontrar enterobacterias (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*), las cuales desempeñan el papel de oportunistas de algunos estados patológicos, por lo que su aislamiento e identificación puede ser útil, tanto para evaluar la evolución del padecimiento, como para orientar sobre el manejo del mismo.²⁹

El cultivo de exudado faríngeo es un procedimiento que ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de ciertas enfermedades, tales como la faringoamigdalitis causadas por el estreptococo beta hemolítico del grupo A principalmente, o del grupo C ó G en algunos casos de adultos, inflamación de garganta de tipo diftérico. En el descubrimiento de focos de infección en algunas enfermedades como la

escarlatina, fiebre reumática, glomerulonefritis aguda y también detección de portadores de organismos como el estreptococo beta hemolítico, *Staphylococcus aureus*, bacilo diftérico y *Haemophilus*.²⁵

En cualquier laboratorio, todo el equipo eléctrico y mecánico debe estar incluido en un programa de mantenimiento preventivo que garantice el control de todas sus funciones a intervalos prescritos. Por lo que en el área de microbiología uno de los equipos más importantes es el autoclave debido a que se utiliza para la esterilización por calor húmedo de medios de cultivo y todo aquel material que resista este tipo de proceso.

Para asegurar la confiabilidad y reproducibilidad del funcionamiento del aparato es necesario evaluarlo; mismo que se logra mediante la validación.

Después de haber concluido su evaluación, se podrán detectar aquellas fuentes no confiables, para realizar las acciones correctivas necesarias y poder asegurar la calidad requerida.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Quizá, las enfermedades respiratorias agudas son los padecimientos más frecuentes de la especie humana y originan mayor ausentismo en las escuelas y centros de trabajo que cualquier otro mal.²⁰

El estudio de las infecciones respiratorias agudas (IRA) es de suma importancia, ya que estos padecimientos representan uno de los problemas epidemiológicos más serios en el mundo, debido a su transmisibilidad tan amplia y rápida, y al gran número de agentes etiológicos que las causan y que dan lugar a las infecciones constantes y con frecuencias graves.¹¹

La mortalidad es considerable, sobre todo en los países subdesarrollados, las tasas de defunción por influenza y neumonía que son registradas suelen ser de 20 a 50 veces más altas que en los desarrollados.¹¹

En cuanto a la morbilidad, el número de casos de infecciones respiratorias agudas (IRA) no se conoce, pero se ve representado por el ausentismo en los sitios de trabajo y escuelas, lo cual constituye una carga económica para la comunidad.¹¹

Los factores sociales, económicos y del medio ambiente son determinantes de la alta frecuencia de estas enfermedades en las poblaciones de más bajos recursos.¹¹

Además estas infecciones son la causa más frecuente de utilización de los servicios de salud en todos los países. Se estima que un niño de una zona urbana, padece de cinco a nueve episodios de IRA por año, durante los cinco primeros años de su vida. Una proporción elevada de estos episodios de IRA son mal manejados por los trabajadores de la salud, utilizando injustificadamente, en una gran proporción de los casos, antimicrobianos, antitusígenos y otros medicamentos sintomáticos y, en cambio, no detectando en forma temprana los datos clínicos de gravedad. Por lo que dentro de los lineamientos para el manejo adecuado de los antimicrobianos, una conducta ideal implica conocer al agente etiológico y su susceptibilidad antimicrobiana.^{17,38,33}

En nuestro país se tiene la impresión de que tanto los signos y síntomas, como la evolución clínica de estos padecimientos, son diferentes entre la población que acude a dos diferentes instituciones (Secretaría de Salud e IMSS). Esto se debe a que en estos sistemas de salud existen diferencias importantes, como son el nivel socioeconómico, el analfabetismo y características de las viviendas. Todo lo anterior hace pensar que las condiciones nutricionales y la evolución de diferentes padecimientos, como son las infecciones respiratorias y las diarreas agudas, también tengan diferencias importantes, con mayor gravedad en los pacientes que acuden a la Secretaría de Salud.^{17,31,33,39,40}

Con base a lo anterior se propone conocer la patología infecciosa del aparato respiratorio superior en la comunidad en estudio. Así como, también los posibles factores de riesgo que afectan directamente a la comunidad.

En el laboratorio de Análisis Clínicos, específicamente en el área de microbiología de la UMAI "Los Reyes" se pretende implementar un programa de control de calidad

V. OBJETIVOS

GENERAL

Determinar el o los agentes etiológicos más frecuentes, presentes en exudados faríngeos de pacientes con infecciones respiratorias superiores de la UMAI "Los Reyes", en base a las condiciones del laboratorio.

PARTICULARES

- 1.- Implementar en base a las condiciones del Laboratorio de Análisis Clínicos UMAI "Los Reyes" una metodología para el control de calidad del Laboratorio de Microbiología.
- 2.- Aislar los microorganismos patógenos presentes en exudados faríngeos de pacientes que padecen infecciones respiratorias de vías superiores en el Laboratorio de Análisis Clínicos UMAI Los Reyes.
- 3.- Determinar la importancia que tienen los estudios de laboratorio para contribuir al diagnóstico de las infecciones respiratorias superiores.
- 4.- Relacionar la frecuencia de los microorganismos patógenos aislados con los posibles factores de riesgo que afecten a los pacientes que asistieron al Laboratorio de Análisis Clínicos UMAI "Los Reyes" con infecciones respiratorias superiores en los Reyes.

VI. HIPOTESIS

Si se logra aislar e identificar a los principales agentes patógenos de mayor frecuencia presentes en las infecciones respiratorias superiores de la población que asiste a la UMAI "Los Reyes", entonces se podrá establecer de manera más precisa una metodología que coadyuve a un mejor diagnóstico y manejo de la antibioterapia en las infecciones respiratorias superiores.

VII. MATERIAL Y METODOS

A. MATERIAL BIOLÓGICO

- Plasma Humano
- Sangre de Camero
- Indicadores biológicos con esporas de *Bacillus stearothermophilus* y *B. subtilis* marca Duo-spore

B. CEPAS DE REFERENCIA

- | | |
|---------------------------------|------------|
| - <i>Escherichia coli</i> | ATCC 8739 |
| - <i>Pseudomona diminita</i> | CDC 65390 |
| - <i>Bacillus subtilis</i> | ATCC 6633 |
| - <i>Candida albicans</i> | ATCC 10231 |
| - <i>Staphilococcus aureus</i> | ATCC 25923 |
| - <i>Streptococcus pyogenes</i> | AST IPN |
| - <i>Salmonella typhi</i> | AST 10 |

C. EQUIPO

- Autoclave
- Incubadora "oven" modelo ov47325
- Refrigerador a 4°C Marca MABE
- Espectrofotómetro Marca Baush & Lomb (Espectronic 20)
- Microscopio Binocular ZEISS
- Balanza analítica y granataria OHAUS (con capacidad hasta 2610g)

D. REACTIVOS

- Bacitracina Dick & Becton
- Cristal violeta Sigma
- Lugol Sigma
- Alcohol - Acetona Backer
- Safranina Sigma
- Peróxido de hidrógeno al 3%
- Reactivo de Kovac Bioxon
- Optoquina Dick & Becton
- Multidiscos gram positivos Bigaux Diagnostica, S.A.
- Multidiscos gram negativos Bigaux Diagnostica, S.A.

E. MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN

- Agar sal y manitol
- Agar Staph 110
- Base de gelosa sangre
- Agar de Mueller-Hinton
- Caldo B.H.I
- Agar Mac Conkey
- Agar GC
- Agar GC + Bacitracina
- Agar Sabouraud
- Agar Citrato de Simmons
- Agar Kligler
- Medio SIM
- Caldo Urea
- Caldo Trehalosa
- Caldo de Hipurato de Sodio
- Caldo soya tripticaseína

F. MATERIAL DE VIDRIO

- Cajas de petri estériles
- Tubos estériles 13 X 100
- Matraces erlenmeyer de diferentes capacidades
- Porta y cubre objetos

G. DIVERSOS

- Abatelenguas
- Hisopos estériles ó Culturetes (con medio modificado de Stuart)
- Gradillas
- Asas
- Porta asas
- Espátulas
- Pinzas
- Mecheros

METODOLOGIA GENERAL

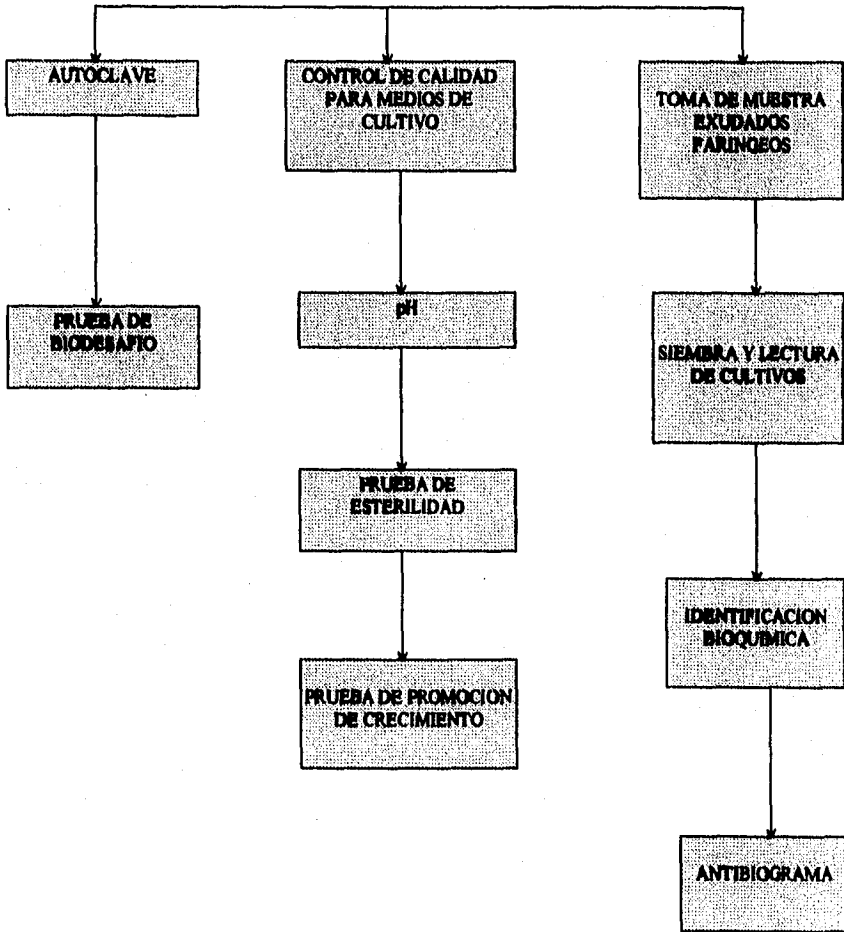


DIAGRAMA N° 1

**VALIDACION DEL PROCESO DE ESTERILIZACION POR CALOR HUMEDO EN EL
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA**

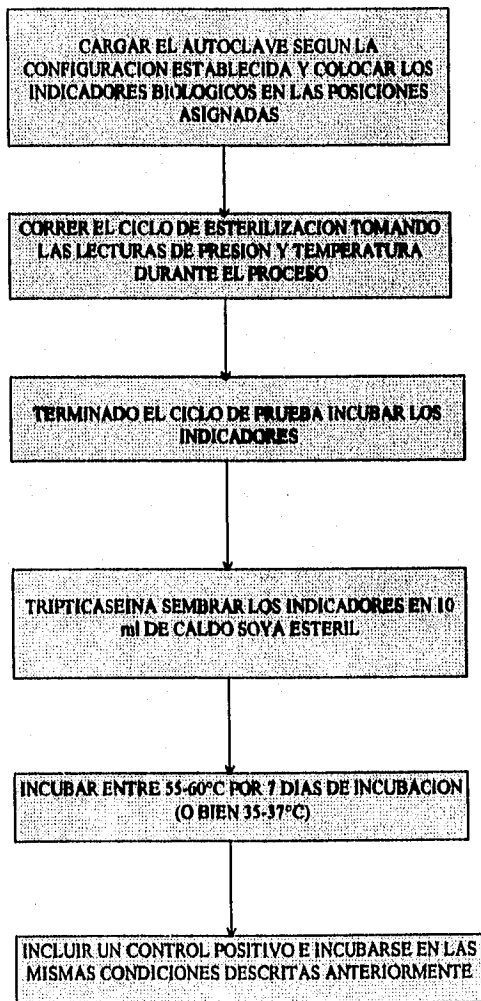


DIAGRAMA N° 2

ORDEN ESTABLECIDO PARA LA METODOLOGÍA USADA:

7.1. PARA EL AUTOCLAVE

7.1.1 Cargar el autoclave según la configuración establecida y colocar los indicadores biológicos en las posiciones asignadas. Para esta parte experimental se debe hacer un estudio de distribución de calor con la cámara vacía y cargada, así como un estudio de penetración de calor-desafío biológico por modelo de carga.

7.1.1.1 Estudios de penetración de calor-desafío biológico por modelo de carga

Los modelos de carga se establecen para aplicarse en todos los ciclos de rutina. deben seleccionarse considerando: consistencia del medio de cultivo (líquidos, semisólidos y sólidos), tipo de soluciones, equipo y material diversos, así como el volumen de trabajo propio del laboratorio.

Cada estudio deberá desafiarse con un mínimo de 5 indicadores biológicos (olla express) y un máximo de 20 indicadores biológicos (autoclave) tratando de monitorear toda la cámara. Los indicadores biológicos deben ubicarse dentro o muy cercanos a los recipientes por validar.

Los tiempos de exposición se toman a partir de que el esterilizador alcance la temperatura de esterilización predeterminada al tipo de producto.

7.1.2 Correr el ciclo de esterilización tomando las lecturas de presión y temperaturas durante el proceso.

7.1.3 Terminado el ciclo de prueba, incubar los indicadores de la siguiente forma:

7.1.4 Sembrar las muestras asepticamente en tubos que contengan 10ml de caldo soya tripticaseína estéril. Incubar los tubos entre 55-60°C y observarlos diariamente hasta completar 7 días de incubación (o bien 35-37°C).

7.1.5 Debe incluirse un control positivo e incubarse en las mismas condiciones descritas en el inciso 3 para cada presentación del indicador biológico.

7.1.6 Los medios de cultivo utilizados durante la prueba deben haber cumplido con la prueba de promoción de crecimiento.
(DIAGRAMA N° 2)

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Las muestras inoculadas en caldo soya tripticaseína no presentan turbiedad en el medio después de la incubación.

el control positivo presenta turbiedad a las 24-48 horas.

2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS

Se prepararon los medios de cultivo siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante, empleados para el diagnóstico.

Para cada medio de cultivo se registro en la hoja de control de calidad de medios preparados, siguiendo el formato que a continuación se menciona:

FORMATO PARA REGISTRO DE MEDIOS DE CULTIVO	
FECHA DE PREPARACION: _____	
Nombre del medio: _____	
Marca: _____	Lote: _____
Datos de la preparación:	
1. Cantidad pesada: _____	
2. Volumen de agua: _____	
3. Proceso de esterilización:	
A) Calor húmedo: _____	Tiempo: _____
	Temperatura: _____
	Presión: _____
B) Filtración: _____	Tamaño de poro: _____
4. Indicador biológico: _____	Conc.: _____
	Marca: _____
	Lote: _____
5. Aspecto (claridad, color, etc.): _____	
6. pH: _____	
7. Esterilidad: _____	
8. indicador biológico: _____	
9. Promoción de desarrollo: _____	
Comentarios: _____	
Preparador: _____	
Responsable: _____	
HOJA DE CONTROL	

7.3. CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO PREPARADOS

Cada lote de medio de cultivo debe someterse a las siguientes determinaciones:

7.3.1.- Determinación de pH.

Este se efectuará a 25°C usando potenciómetro validado.

7.3.2.- Prueba de esterilidad.

Se recomienda someter a esta prueba el 4% de las unidades preparadas incubando a 35-37°C (24 a 48 horas) o bien a 20-25°C (5-7 días), la incubadora debe estar validada.

7.3.3.- Prueba de promoción del crecimiento.⁴²

METODOLOGIA UTILIZADA PARA EL ESTUDIO EXUDADOS FARINGEOS

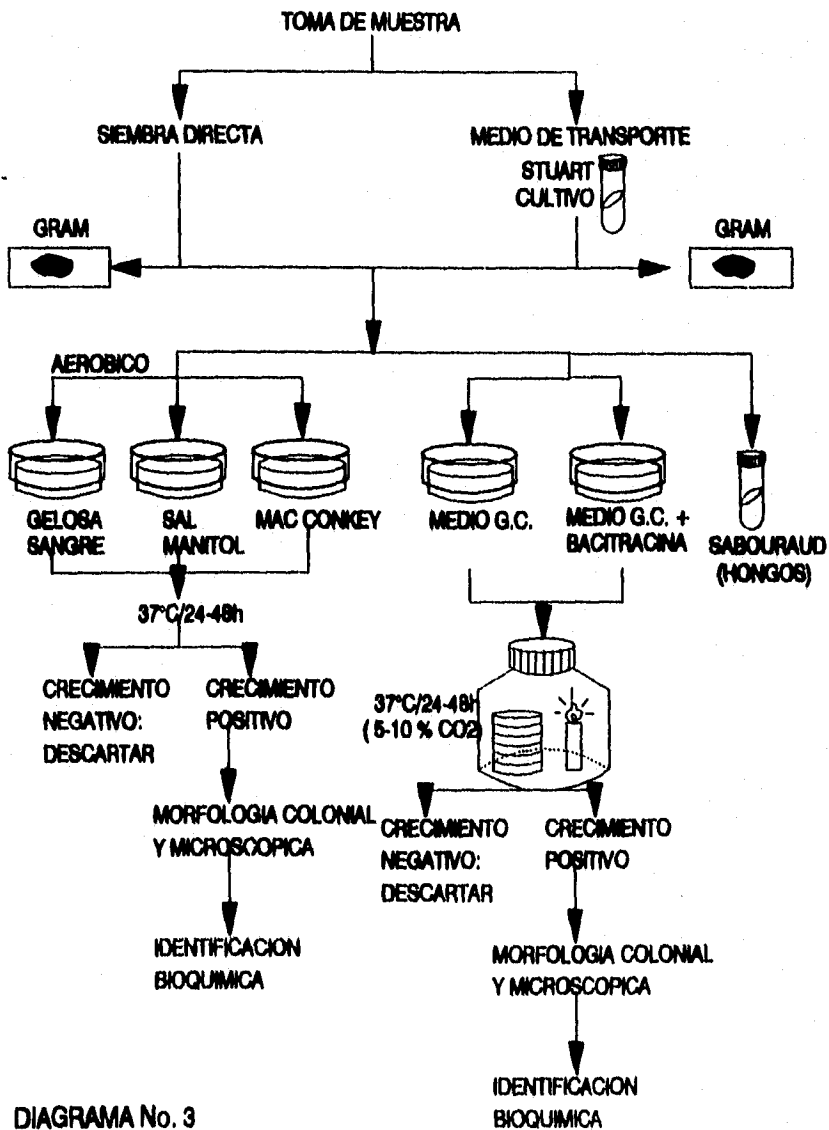


DIAGRAMA No. 3

7.4.- OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA BIOLÓGICA.

7.4.1.- Tomar el exudado faríngeo.

7.4.2.- Aplicar el cuestionario (anexo N° 1) a los pacientes que asistan al laboratorio.

7.4.3.- De las muestras tomadas sembrar directamente en los medios de cultivos correspondientes, de acuerdo al diagrama N° 3.

Los hisopos cuya siembra se demora, deben colocarse en caldo y si el retraso ha sido de 2 a 8 horas se deben incubar a la temperatura de 37°C una hora antes de sembrarse; cuando la demora ha sido de más de 8 horas deben incubarse 5 horas en caldo a la temperatura de 37°C.

7.4.4.- Identificación del primoaislamiento (lectura a las 24 y 48 horas.):

- *Streptococo β hemolítico*. Las colonias de la superficie del agar sangre son pequeñas, de menos de 1 mm. de diámetro convexas, translúcidas, grisáceas, opacas, duras y secas, rodeadas por una zona de hemólisis de 2 mm. de diámetro (se observa perfectamente transparente e incolora), sin eritrocitos o muy escasos; las colonias abajo de la superficie son de forma lenticular y están rodeadas también por una zona de hemólisis sin eritrocitos.

- *Estafilococo coagulasa positiva*. En agar sangre desarrollan colonias grandes, apertadas, opacas, de consistencia butirosa y generalmente producen hemólisis beta.

Algunas veces las colonias de este germen pueden confundirse con las del *estreptococo β hemolítico*; la diferenciación puede hacerse con la prueba de la catalasa. Las colonias de *estafilococo* producen burbujas de gas, las de *estreptococo* no.

Los *estafilococos* crecen en el medio selectivo agar sal y manitol, las cepas patógenas de este grupo fermentan el manitol y dan positiva la prueba de la coagulasa (*Staphylococcus aureus*).

- *Neumococo*. La morfología de los *neumococos* es muy típica, son gérmenes de forma lanceolada, con cápsula, se disponen en pares o cadenas cortas. En agar sangre las colonias son brillantes, transparentes y con una zona de alfa hemólisis.

Puede confundirse con el *estreptococo α hemolítico*, para diferenciarlo se usa la prueba basada en la propiedad que tiene el *neumococo* de ser soluble en sales liliarias.

- *Haemophilus*. Son gérmenes gram negativos de forma cocobacilar en cultivos recientes y formas bacilares grandes, formando madejas, en cultivos viejos. Sus colonias son pequeñas, mucosas y de un milímetro de diámetro.¹⁸

- *Neisseria*. Las *neisserias* son cocos Gram negativos, que en las tinciones de preparados se presentan característicamente en pares, con los lados adyacentes aplanados, simulando guisantes.

Las neisserias comprenden varias especies, la mayoría de las cuales son relativamente exigentes y requieren medios enriquecidos tales como el agar chocolate, que proporciona una rica fuente de hierro. La mayoría de las especies requiere para su desarrollo humedad relativamente elevada y una ambiente de CO₂ entre 5 y 10%.

Sólo las especies *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis* causan frecuentemente enfermedad significativa en el hombre.

Las actividades de los microorganismos son afectadas intensamente por las condiciones químicas y físicas de sus ambientes.

4.5.- Identificación de las especies encontradas en exudados faríngeos.

Identificación de:	
<i>Streptococcus hemolítico grupo "A"</i>	Disco de bacitracina A
Neumococos	Disco de optoquina P
	Prueba de sensibilidad en bilis
<i>Enterobacterias</i>	Agar de hierro y triple azúcar
	Agar de hierro y lisina
	Medio MIO, Citrato de Simmons
	Base de agar Urea
<i>S.aureus</i> y otros Micrococos	Catalasa (H ₂ O ₂)
	Prueba de coagulación
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Prueba de oxidasa
	Fermentación de azúcares
<i>Candida albicans</i>	Frotis, suero a 35°C de 3 a 4hrs. Tubos germinales
	Agar de Harina de Maíz (clanidiosporas)

Patrones de reacción bioquímica en las pruebas primarias de las enterobacteriáceas de importancia clínica

PRUEBA	Escherichia	Klebsiella
Citrato	-	+
Gas	+	±
Glucosa	+	+
H ₂ S	-	-
Indol	+	±
Lisina	+	+
Motilidad	±	-
TSI		
Zona inclinada	A(ALC) AG	A AG
Voges-Proskauer	-	+

VIII. RESULTADOS

8.1 CONTROL DE CALIDAD EN EL AREA DE MICROBIOLOGIA

8.1.1. PROCEDIMIENTO DE OPERACION DEL AUTOCLAVE

8.1.2 Primera corrida

Las condiciones de operación del equipo fueron las siguientes:

Temperatura 120°C
Tiempo 15 minutos
Presión 16.5 lb

Los resultados obtenidos después del tiempo de incubación para los bioindicadores son los siguientes:

BIOINDICADOR	CONDICIONES DE INCUBACIÓN		RESULTADOS
	TIEMPO	TEMPERATURA	
Duo-spore	7 días	37°C	Negativo
Control	7 días	37°C	Negativo

CUADRO N° 3

NEGATIVO: SIN DESARROLLO DE BACTERIAS

POSITIVO: DESARROLLO DE BACTERIAS

El bioindicador Duo-spore no tuvo crecimiento en el medio de cultivo después del tiempo y las condiciones de incubación.

El control positivo que se incluyo, fue un indicador biológico sin haberse sometido al procedimiento de autoclaveado por lo que se incubo bajo las mismas condiciones que los demás, dando un desarrollo de bacterias (crecimiento positivo)

1.3 Segunda corrida

Las condiciones de operación del equipo fueron las siguientes:

Temperatura	120°C
Tiempo	15 minutos
Presión	16.5 lb

Los resultados obtenidos después del tiempo de incubación para los bioindicadores son los siguientes:

BIOINDICADOR	CONDICIONES DE INCUBACIÓN		RESULTADOS
	TIEMPO	TEMPERATURA	
Duo-spore	7 días	37°C	Negativo
Control	7 días	37°C	Negativo

CUADRO N° 3.1

NEGATIVO: SIN DESARROLLO DE BACTERIAS

POSITIVO: DESARROLLO DE BACTERIAS

El bioindicador Duo-spore no tuvo crecimiento en el medio de cultivo después del tiempo y las condiciones de incubación.

El control positivo que se incluyó, fue un indicador biológico sin haberse sometido al procedimiento de autoclaveado por lo que se incubó bajo las mismas condiciones que los demás, dando un desarrollo de bacterias (crecimiento positivo)

8.1.4 Tercera corrida

Las condiciones de operación del equipo fueron las siguientes:

Temperatura	120°C
Tiempo	15 minutos
Presión	16.5 lb

Los resultados obtenidos después del tiempo de incubación para los bioindicadores son los siguientes:

BIOINDICADOR	CONDICIONES DE INCUBACIÓN		RESULTADOS
	TIEMPO	TEMPERATURA	
Duo-spore	7 días	37°C	Negativo
Control	7 días	37°C	Negativo

CUADRO N° 3.2

NEGATIVO: SIN DESARROLLO DE BACTERIAS

POSITIVO: DESARROLLO DE BACTERIAS

El bioindicador Duo-spore no tuvo crecimiento en el medio de cultivo después del tiempo y las condiciones de incubación.

El control positivo que se incluyó, fue un indicador biológico sin haberse sometido al procedimiento de autoclaveado por lo que se incubó bajo las mismas condiciones que los demás, dando un desarrollo de bacterias (crecimiento positivo)

2 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

De cada lote de medios de cultivo que se prepararon se utilizó un 10% para el control de calidad, todo quedó debidamente registrado en su formato para medios de cultivo. (Hoja de control)

Con respecto a la prueba de promoción de crecimiento lo primero que se realizó fue, la preparación estandarización del inoculo.

PREPARACION Y ESTANDARIZACION DEL INOCULO (MICROORGANISMO DE PRUEBA)

Los cultivos empleados deben ser recientes: 18-24 horas para bacterias, 24-48 horas para hongos levaduriformes, y de 7 a 28 días para hongos filamentosos.

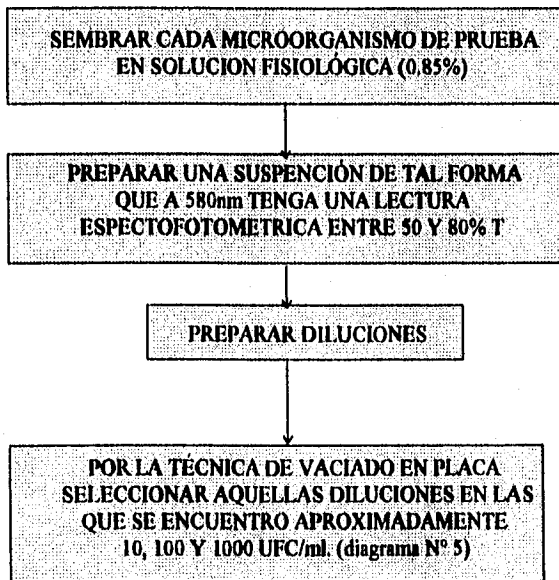
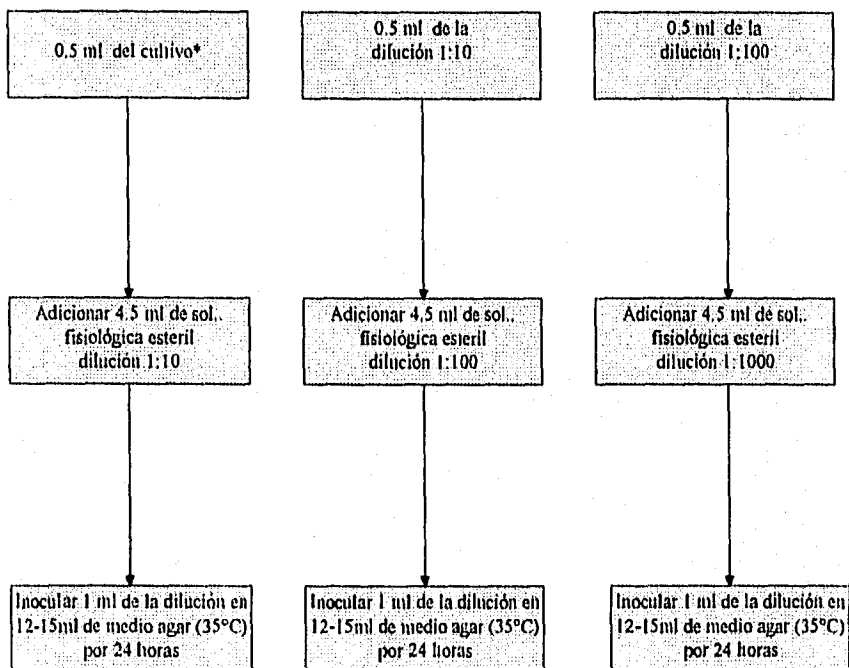


DIAGRAMA N° 4

CONTEO DE COLONIAS PLACA INVERTIDA



*CEPA ORIGINAL
CULTIVO (50-70% DE T)

DIAGRAMA Nº 5

El tipo de microorganismo que se preparó dependió de los medios de cultivo a probar en el día de trabajo. En la tabla N°. 1 se muestra un ejemplo de los resultados al final del conteo de colonias.

CONTEO DE COLONIAS POR EL METODO DE PLACA INVERTIDA

CEPAS	NÚMERO DE COLONIAS
<i>Candida albicans</i>	
Caja N° 1	1035
Caja N° 2	34
Caja N° 3	7
<i>Salmonella tiphy</i>	
Caja N° 1	941
Caja N° 2	323
Caja N° 3	56
<i>Escherichia coli</i>	
Caja N° 1	978
Caja N° 2	360
Caja N° 3	76
<i>Staphilococcus aureus</i>	
Caja N° 1	1050
Caja N° 2	43
Caja N° 3	6
<i>Bacillus subtilus</i>	
Caja N° 1	993
Caja N° 2	400
Caja N° 3	30

Tabla N° 1

Conociendo el número de microorganismos en cada dilución se procedió a realizar la técnica de la gota de Miles-Mishra (Promoción de crecimiento). Diagrama N° 6

TECNICA DE LA GOTA DE MILES-MISHRA
MEDIOS DE CULTIVO SOLIDO (PROMOCION DE CRECIMIENTO)

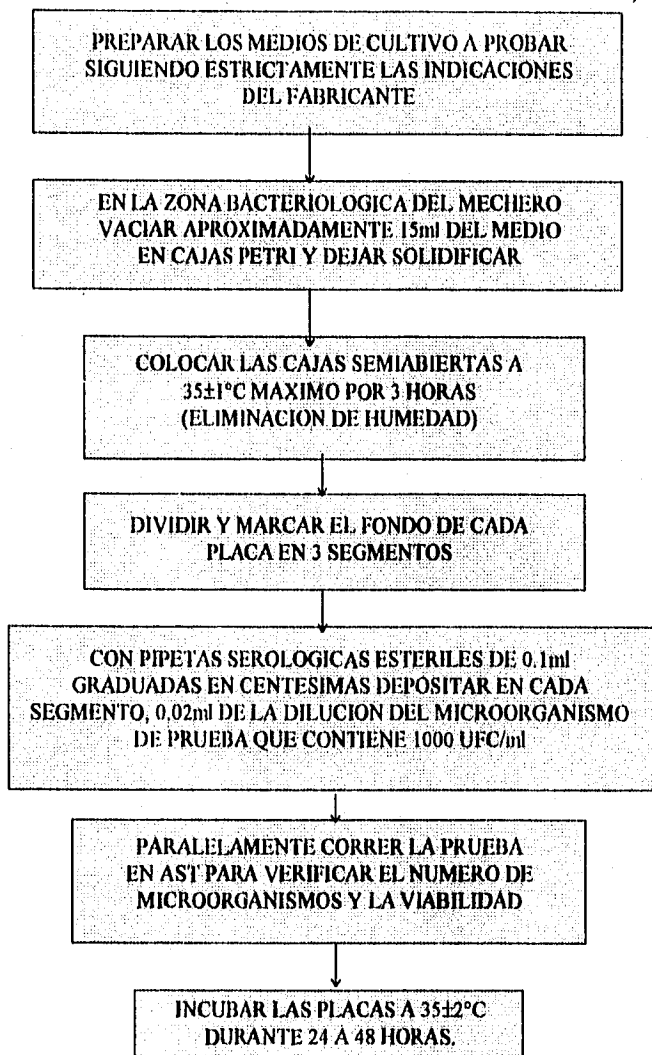


DIAGRAMA N° 6

Todo lo anterior quedo registrado en su hoja de control para cada medio de cultivo.(Hoja de control)

Todos los medios de cultivo que se prepararon fueron aprobados por lo que el siguiente paso fue la toma de muestra de los exudados.

8.3 ESTUDIO CLINICO

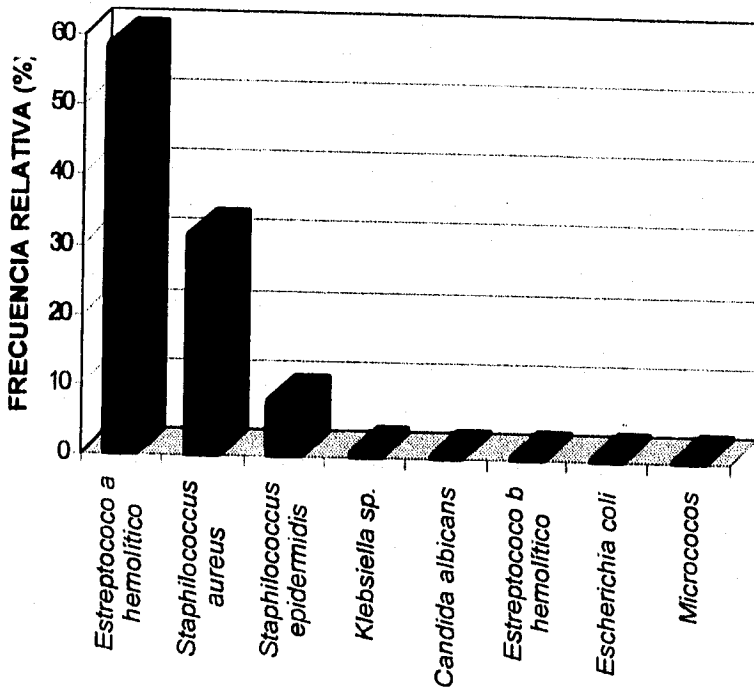
La tabla N°.2 muestra la frecuencia de microorganismos aislados de un total de 294 exudados faringeos, siendo *Streptococo α hemolitico* el más frecuente con 172 casos (58.50%), para *Staphilococcus aureus* fue de 93 casos (31.63%) y *Staphilococcus epidermidis* con 23 casos (7.83%).

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS EN EXUDADOS FARINGEOS

MICROORGANISMO	Nº DE AISLAMIENTO	Porcentaje
<i>Streptococcus α hemolitico</i>	172	58.50
<i>Staphilococcus aureus</i>	93	31.63
<i>Staphilococcus epidermidis</i>	23	7.83
<i>Klebsiella sp</i>	2	0.68
<i>Candida albicans</i>	1	0.34
<i>Streptococo β hemolitico</i>	1	0.34
<i>Escherichia coli</i>	1	0.34
Micrococo	1	0.34
TOTAL	294	100%

Tabla N° 2

FRECUENCIA GENERAL DE MOOS ENCONTRADOS EN EXUDADOS FARINGEOS EN LA UMAI LOS REYES



La tabla N° 3 y N° 3.1 muestra el porcentaje de microorganismos aislados, que se identificaron como causantes de enfermedades del tracto respiratorio superior (patógenos) con un 33.33% y como flora normal un 66.7%

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PATOGENOS

MICROORGANISMO	N° DE AISLAMIENTO	Porcentaje
<i>Staphylococcus aureus</i>	93	94.89
<i>Klebsiella sp</i>	2	2.04
<i>Streptococcus B hemolitico</i>	1	1.02
<i>Escherichia coli</i>	1	1.02
<i>Candida albicans</i>	1	1.02
TOTAL	98	100

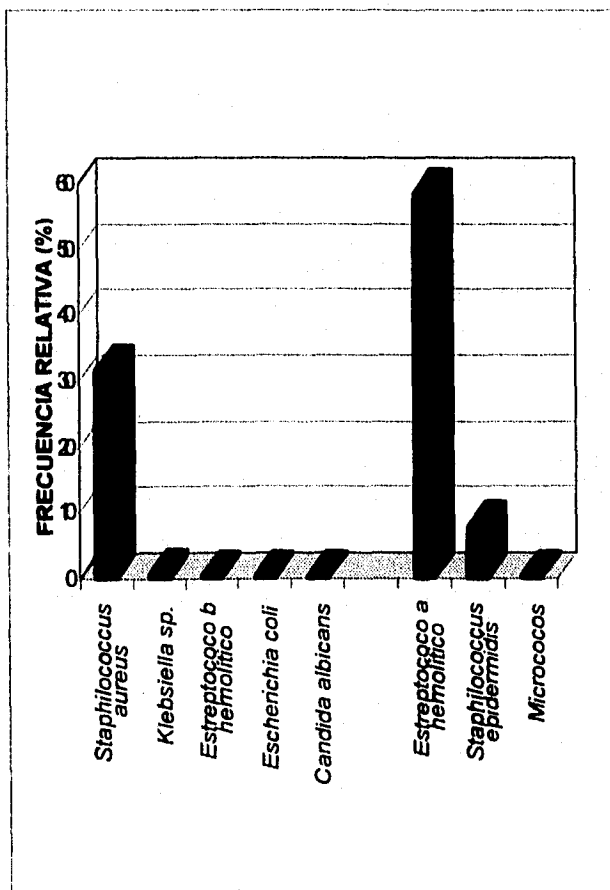
Tabla N° 3

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS NO PATOGENOS (FLORA NORMAL)

MICROORGANISMO	N° DE AISLAMIENTO	Porcentaje
<i>Streptococo α hemolitico</i>	172	86.00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23	11.50
<i>Micrococcus</i>	1	0.50
TOTAL	196	100.00

Tabla N° 3.1

**MICROORGANISMOS PATOGENOS Y NO PATOGENOS
ENCONTRADOS EN EXUDADOS FARINGEOS DE LA UMAI LOS
REYES**



1993
GRAFICA N° 2

La tabla N° 4 muestra el aislamiento de los microorganismos en relación a la edad de los individuos estudiados: en niños de 0 - 5 años se aislaron 30 cepas de *S. aureus* (12.71%), este porcentaje disminuye conforme aumentaba la edad. Para *Estreptococo α hemolítico* se obtuvo mayor porcentaje en individuos de 6 a 10 años (18.64%).

Se encontro un solo caso (0.42%) de aislamiento para 4 bacterias con diferentes edades:

MICROORGANISMO	EDAD (AÑOS)
<i>Streptococcus β hemolítico</i>	6 - 10
<i>Micrococcus</i>	16 - 20
<i>Bacteroides coli</i>	21 - 25
<i>Elitococcus sp.</i>	41 - 50

La gráfica N°3 muestra el porcentaje de cada microorganismo aislado por grupo etario, en todos los casos *Estreptococo α hemolítico* ocupó el mayor porcentaje excepto para el grupo de 50 años en adelante, pero la diferencia es mínima.

FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS POR GRUPO ETARIO

MOS EDAD	<i>Estreptococo α hemolítico</i>	%	<i>Staphilococcus aureus</i>	%	<i>Staphilococcus epidermidis</i>	%
0-5	42	17.80	30	12.71	3	1.27
6-10	44	18.64	13	5.36	5	2.11
11-15	6	2.54	3	1.27	1	0.42
16-20	14	5.93	10	4.13	0	0
21-25	5	2.11	7	2.90	0	0
26-30	11	4.66	2	0.87	1	0.42
31-35	7	2.96	3	1.27	1	0.42
36-40	4	1.70	2	0.87	1	0.42
41-50	7	2.96	2	0.87	1	0.42
51-60	1	0.42	4	1.70	2	0.87
TOTAL	141	59.74	76	32.80	15	6.35

Tabla N° 4

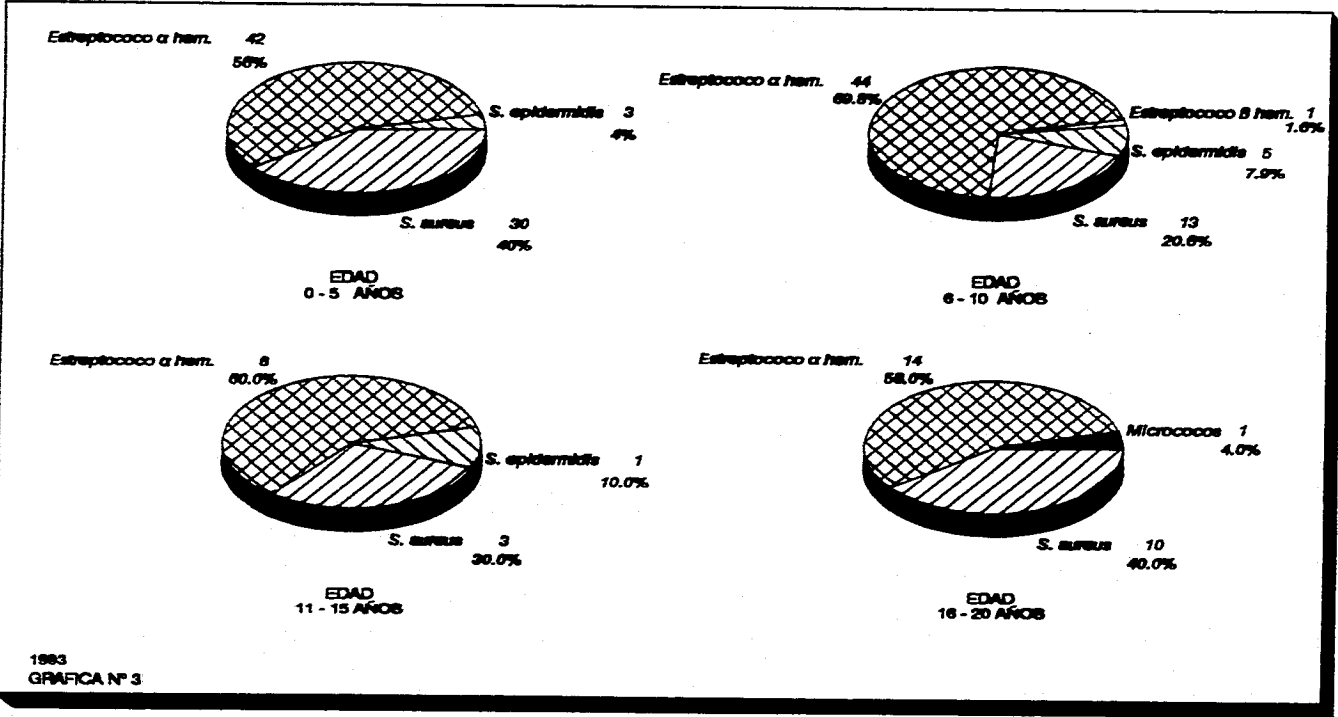
De los 294 exudados faríngeos 58 se excluyeron. En la tabla N° 4.1 se muestra los microorganismos aislados sin edad, como observamos el mayor número de aislamiento corresponde a *Streptococo α hemolítico* con un 32%.

FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS SIN GRUPO ETARIO

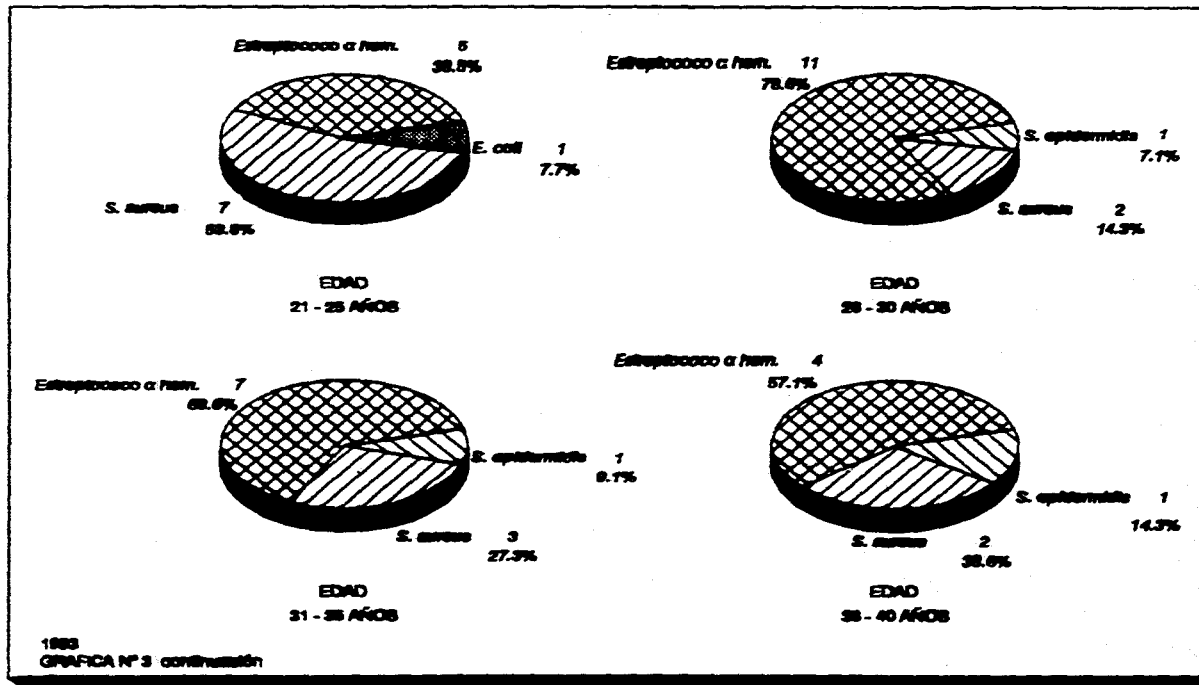
	N° DE AISLAMIENTO
<i>Streptococo α hemolítico</i>	31
<i>Streptococo β hemolítico</i>	17
<i>Streptococo γ hemolítico</i>	8
<i>Streptococo no hemolítico</i>	1
<i>Streptococo de grupo D</i>	1
TOTAL	58

Tabla N° 4.1

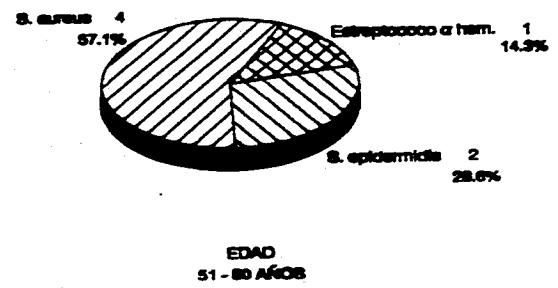
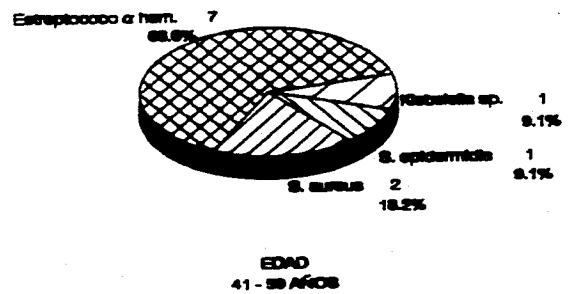
**FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN
EXUDADOS FARINGEOS EN LA UMAI LOS REYES
POR GRUPO ETARIO**



**FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN
EXUDADOS FARINGEOS EN LA UMMI LOS REYES
POR GRUPO ETARIO**



**FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN
EXUDADOS FARINGEOS EN LA UMAI LOS REYES
POR GRUPO ETARIO**



1988
GRAFICA N° 3 continuación

La tabla N° 5 y N° 5.1 muestran el porcentaje de casos encontrados con respecto al sexo. El mayor número de pacientes fue del sexo femenino con un total de 192 (67.4%) casos y para el masculino fue de 93 con un 32.6%.

FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN EL SEXO FEMENINO

	N° DE AISLAMIENTO	PORCENTAJE
Fuente normal	131	68.23
Patógenos	61	31.77
TOTAL	192	100

Tabla N° 5

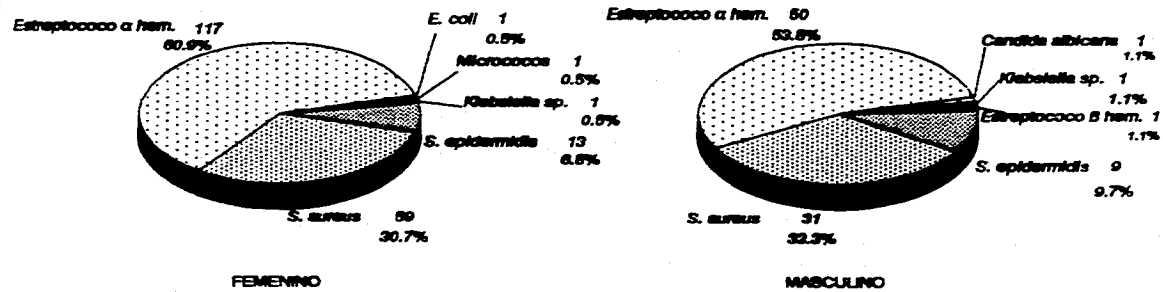
FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN EL SEXO MASCULINO

	N° DE AISLAMIENTO	PORCENTAJE
Fuente normal	59	63.44
Patógenos	34	36.56
TOTAL	93	100

Tabla N° 5.1

Se excluyeron 10 casos por no conocerse al sexo en que pertenecían

**FRECUENCIA DE MICROORGANISMO vs SEXO AISLADOS
EN EXUDADOS FARINGEOS**



1993
GRAFICA N° 4

La tabla N° 6 nos da la relación que existe entre el índice* con respecto al microorganismo aislado. Solamente se pudo obtener 99 datos del total de 294 en general, esto también se debió a problemas externos.

Entreptococo α hemolítico	Staphilococcus epidermidis
27 (27.27%)	2 (2.02%)
17 (17.17%)	4 (4.04%)
10 (10.10%)	0 (0%)
2 (2.02%)	1 (1.01%)
4 (4.04%)	0 (0%)
60 (60.60%)	7 (7.07%)

Tabla N° 6

En la gráfica N° 5 se observa que de los 99 datos obtenidos el microorganismo que se aisló con más frecuencia fue Estreptococo α hemolítico (60.60%); seguido de *S. aureus* con un 32.3%, *S. epidermidis* se encontró en un 7.1%.

Las gráficas N° 5.1 muestran para cada intervalo con respecto al índice el porcentaje de los microorganismos aislados.

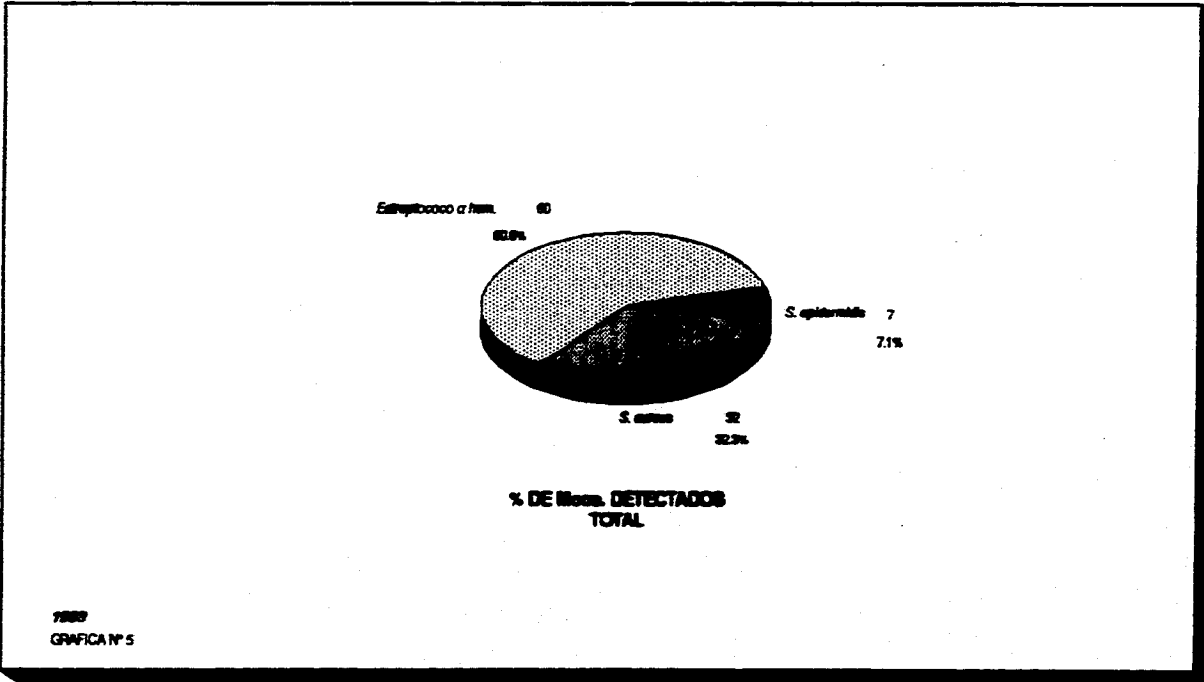
** índice= N° de cuartos de la vivienda / N° de personas que viven ahí.

Ejemplo: N° de cuartos = 2

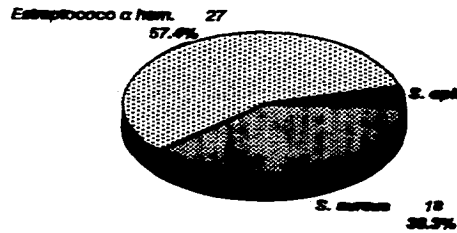
N° de personas = 4

Índice = $2/4 = 0.5$

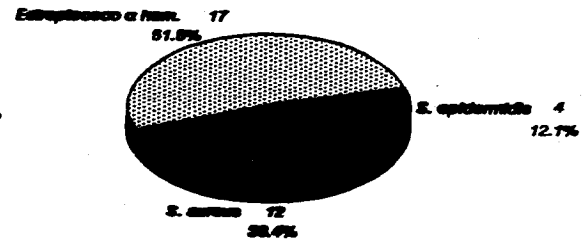
FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS vs. INDICE



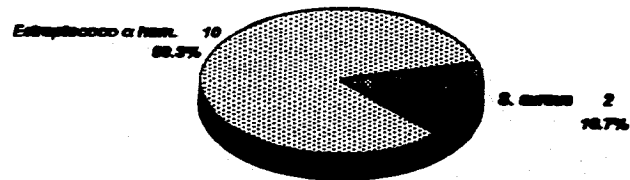
**FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS vs
INDICE**



**% DE Mocs. DETECTADOS
EN EL INTERVALO 0.4 - 1.0**



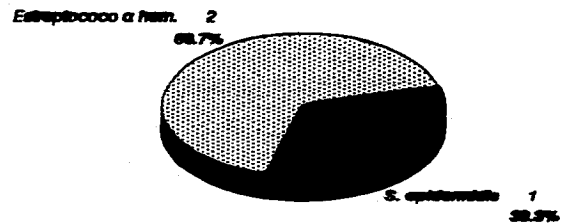
**% DE Mocs. DETECTADOS
EN EL INTERVALO 1.1 - 1.7**



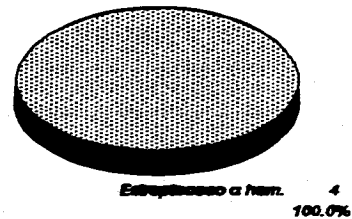
**% DE Mocs. DETECTADOS
EN EL INTERVALO 1.8 - 2.4**

1988
GRAFICA Nº 5.1

**FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS vs
INDICE**



**% DE Mue. DETECTADOS
EN EL INTERVALO 2.5 - 3.1**



**% DE Mue. DETECTADOS
EN EL INTERVALO 3.1 - 4.0**

1988
GRAFICA N° 5.1 continuación

De las cepas aisladas, la mayor fue *S. aureus*, por lo que a esta bacteria se le realizo sensibilidad a antimicrobianos por la técnica de difusión en agar o antibiograma. La tabla N° 7 muestra los resultados practicados de 53 antibiogramas en total.

De los resultados obtenidos con los antibiogramas se agruparon por sus características de sensibilidad o resistencia a los antimicrobianos. Gráficas N° 6

RESULTADOS DE LOS ANTIBIOGRAMAS PARA *Staphilococcus aureus*

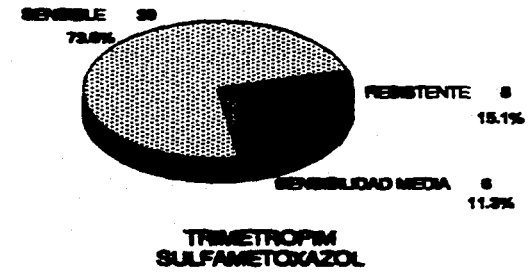
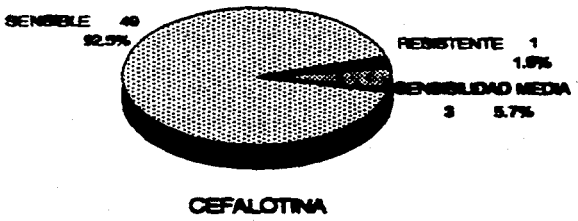
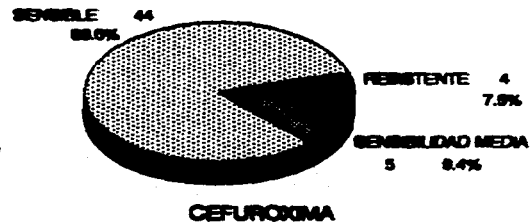
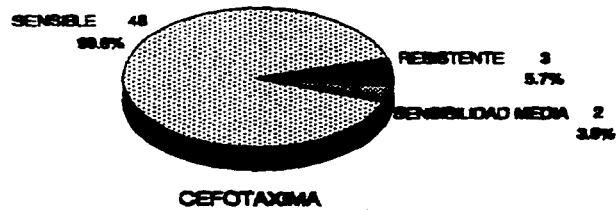
SENSIBILIDAD	SENSIBILIDAD MEDIA	RESISTENTE
39	6	8
48	2	3
19	27	7
44	5	4
29	21	3
30	23	0
1	0	52
49	3	1
2	16	35
11	19	23
1	3	49
31	12	10

TABLA N° 7

***ANTIMICROBIANOS:**

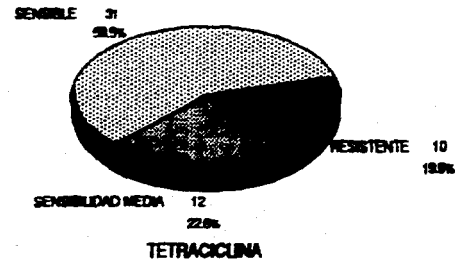
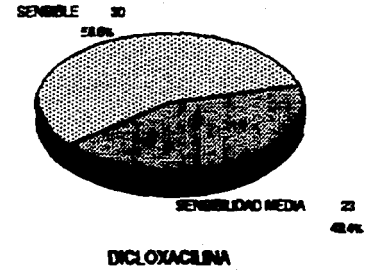
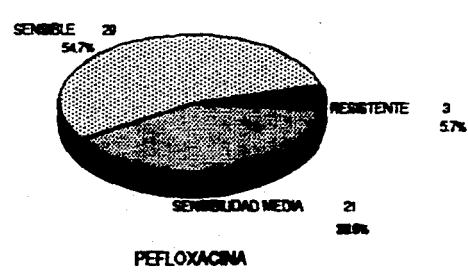
- STX: Trimetoprim-sulfametoxazol
- CTX: Cefotaxima
- GE: Gentamicina
- CXM: Cefuroxima
- PEF: Pefloxacina
- DC: Dicloxacilina
- PE: Penicilina
- CF: Cefalotina
- CAZ: Cefazidima
- E: Eritromicina
- AM: Ampicilina
- TE: Tetraciclina

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE ANTIMICROBIANOS EN *Staphylococcus aureus*



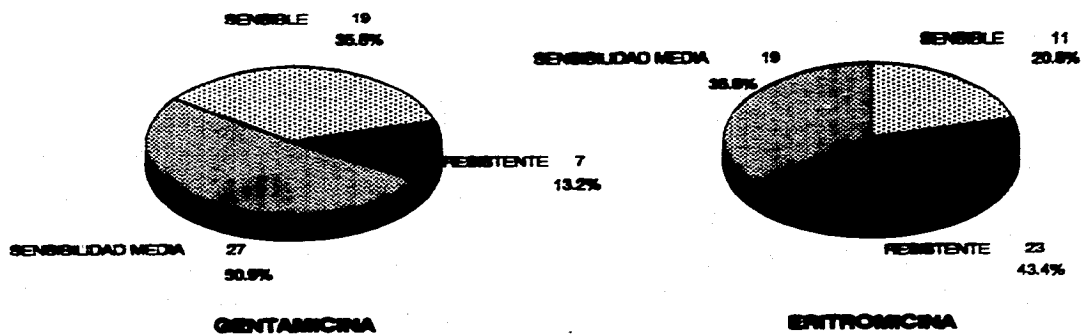
1993
 * Ticsita de ensilograma
 GRAFICA Nº 6

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE
SENSIBILIDAD DE ANTIMICROBIANOS EN
Staphylococcus aureus



1982
* Técnica de antibiograma
GRAFICA Nº 61 continuación

**COMPARACION DEL PORCENTAJE DE
SENSIBILIDAD DE ANTIMICROBIANOS EN
*Staphylococcus aureus***

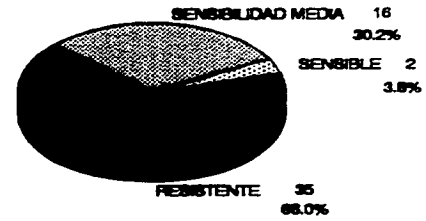


2003
 * Titulo de miligramos
 GRAFICA N° 8 continuación

**COMPARACION DEL PORCENTAJE DE
SENSIBILIDAD DE ANTIMICROBIANOS EN
*Staphylococcus aureus***



PENICILINA



CEFTAZIDIMA



AMPICILINA

RES
• Número de antibiogramas
GRAFICA N° 6 continuación

IX. ANALISIS DE RESULTADOS

9.1 CONTROL DE CALIDAD EN EL AREA DE MICROBIOLOGIA

Tomando en cuenta las características y el uso del autoclave se siguió la metodología propuesta por el Manual de Medios de Cultivo⁴².

En las pruebas de biodesafío efectuadas para el autoclave no se observó crecimiento en los indicadores biológicos (Tabla N° 3) después del tiempo y temperatura indicado. Se incluyó controles positivos los cuales fueron indicadores biológicos sin haberse sometido al proceso de esterilización por calor húmedo, se incubaron bajo las mismas condiciones que los indicadores que si se sometieron al proceso al final de la incubación solamente estos tuvieron crecimiento, por lo que con estos resultados se asegura que el funcionamiento del autoclave es correcto y que los ciclos de esterilización llevados a cabo en el mismo son adecuados y proporcionan los resultados deseados.

No se llevaron a cabo todos los estudios (Distribución de calor cámara vacía y cámara con carga, penetración de calor) que complementarían todo un trabajo de validación por las siguientes razones:

- Falta de instalaciones adecuadas al Laboratorio
- Falta de material
- Uso general del autoclave.

En el presente trabajo se calificó el proceso de esterilización con vapor húmedo utilizando el enfoque de la muerte o destrucción del indicador biológico el cual es empleado cuando el material puede soportar el tratamiento al calor sin sufrir efectos adversos.

Todos los medios de cultivo que se prepararon cumplieron satisfactoriamente las pruebas realizadas, desde la preparación, hasta su uso final y registradas debidamente en su formato correspondiente, se obtuvo como resultado un mejor control de los mismos.

9.2 ESTUDIO CLINICO

Se estudiaron 294 exudados faríngeos. En la gráfica N° 1, se observa el número de cepas aisladas que en total fueron 8 de las cuales las que se consideran como posible causa de enfermedades respiratorias fueron: *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Klebsiella sp.* y Estreptococo beta hemolítico. Para los microorganismos considerados como flora normal del tracto superior, las cepas que se identificaron fueron: Estreptococo α hemolítico, *Staphylococcus epidermidis* y Micrococos.

En la gráfica N° 2 encontramos el porciento correspondiente para las cepas aisladas como patógenas que fue de 33.33%, mientras que para la flora normal fue de 66.67%

De las bacterias patógenas, el mayor número de cepas aisladas fue de *S. aureus* (31.63%). Solamente hubo un caso para Estreptococo beta hemolítico, *E.coli*, *Candida albicans* (0.34%) y 2 para *Klebsiella sp.*(0.68%). Cabe mencionar que durante el muestreo no se encontró ningún paciente que presentara un cuadro clínico muy severo.

La frecuencia de aislamiento de *S. aureus* tanto en aquellos pacientes que presentaban algún sintoma de infección, como aquellos que se presentaron sin ningún sintoma fueron similares, esto se puede deber a que el *S. aureus* es agente causal de Infecciones Respiratorias Agudas (IRA), pero también se aísla con frecuencia elevada en portadores sanos¹³

Existe un gran porcentaje de portadores asintomáticos de *S. aureus* que lo albergan en cavidad nasofaríngea y que constituye un problema en la transmisión de la enfermedad. *S. aureus* empieza a colonizar el cuerpo durante la etapa neonatal del hombre convirtiéndose también en un portador permanente: esta infección acompaña al individuo durante toda la vida, formando parte de la flora normal del individuo.¹³

En el estudio solamente se encontró 2 tipos de enterobacterias *Klebsiella sp.* y *E. coli*. Una de las posibles explicaciones es que los pacientes estuvieron en tratamiento al momento de realizar la toma, por lo que las bacterias sensibles pudieron eliminarse y sobrevivir las resistentes, agravando el cuadro respiratorio. No se debe olvidar que en el exudado faríngeo es posible encontrar enterobacterias, las cuales desempeñan el papel de oportunistas en algunos estados patológicos por lo que su aislamiento e identificación es útil, tanto para evaluar la evolución del padecimiento, como para orientar sobre el manejo del mismo.

Se han reportado cambios en la microflora faríngea durante la enfermedad viral. El porcentaje de colonización habitual es de 15% para enterobacterias gramnegativas y de 10% para *Staphylococcus aureus*; durante la enfermedad viral se incrementa al 60% y 40%, respectivamente; asimismo existe un aumento en la adherencia de estas bacterias.^{8, 16}

También se encontró solamente un caso para *Candida*. García Ramos y col. demostraron que las levaduras colonizan la orofaringe a edad temprana y el hecho de recuperarlas de los exudados faríngeos no permitió en ningún caso asociarlas al síndrome ya que el único método confirmatorio que establece que es un patógeno pulmonar primario, es la demostración de estructuras levaduriformes y pseudomicelio a partir de biopsias pulmonares.¹¹

Por otra parte el 66.7% que resultó negativo, pero que sin embargo algunos de los pacientes refirieron tener algún cuadro no descartar la posibilidad de infección por virus, y que debido a la infraestructura del laboratorio no se pudo hacer un estudio que incluyera el diagnóstico para virus.

Ahora se acepta en general que las bacterias tienen un papel menos importante que los virus. Se considera que los agentes no bacterianos son causantes del 95% de los casos de enfermedad aguda del tracto respiratorio superior y de una proporción considerable (aunque inferior) de casos de enfermedad del tracto respiratorio inferior. La asociación de microorganismos víricos y bacterianos se ha encontrado en una baja proporción de casos.^{33,38}

La elevada frecuencia de los casos de infecciones respiratorias se encuentra íntimamente relacionada con la variabilidad genética de algunos virus, por ejemplo el virus de la influenza A presenta variaciones en su genoma lo cual le confiere la capacidad de infectar a otras especies (aves), y de esta forma establecer una circulación mucho más amplia y desencadenar epidemias o pandemias que resultan difíciles de controlar.¹³

Con el cuestionario que se formuló (anexo N° 1) se intentó hacer un análisis con respecto a los factores socioeconómicos de la población, para investigar principalmente las características en cuanto a la relación de números de cuartos contra el número de personas que habitan una casa, su ingreso familiar, sus hábitos sobre la automedicamentación. Pero uno de los problemas que se encontró fue la resistencia o la desconfianza de los pacientes para contestar abiertamente el cuestionario, por lo que se presentan los datos que se obtuvieron para cada análisis.

En cuanto a la edad de los pacientes como vemos en la tabla N° 4, se tuvieron más casos para niños menores de 5 años. Si analizamos este grupo de edad observamos que existe un 40% (Gráfica 7.4) de *S. aureus* aislados, aunque para los demás grupos de edad el aislamiento de *S. aureus* aumento o disminuyó el grupo más afectado corresponde a los menores de 5 años.

Las infecciones en los niños menores de cinco años son más severas por su falta de madurez anatómica e inmunológica. En ellos hay obstrucción de las vías respiratorias por cualquier proceso inflamatorio, porque su diámetro es pequeño y los síntomas clínicos con que se manifiestan no son específicos. Con respecto a la respuesta inmune, el recién nacido tiene menos de 50% de las concentraciones de complemento total, así como de sus componentes. La IgM e IgA son prácticamente nulas, la primera no alcanza niveles normales entre los 2-4 años y la segunda de los 4-8 años de edad. La función de las células T también está reducida en la infancia. Es la única época de la vida en la que el individuo es "normalmente" inmunodeficiente.¹¹

El niño pequeño es afectado más gravemente que los de mayor edad, también se complica la situación porque varios microorganismos pueden estar en las vías respiratorias superiores sin que causen la enfermedad.¹¹

En todos los grupos de edad hubo aislamiento de *S. aureus*, debido quizás a sus características: *S. aureus* es muy resistente, sobrevive mucho tiempo en el aire y sobre objetos inanimados, pero la transmisión de persona a persona es el mecanismo más importante, sobre todo en hospitales. En los últimos 40 años, la aparición de estafilococo resistente a antibióticos se ha considerado como una inevitable respuesta genética hacia la presión selectiva impuesta por la terapia antimicrobiana.¹³ No debemos olvidar el otro extremo de la vida, los ancianos también son afectados dada sus características propias de la edad, pero en este estudio no se obtuvo un número representativo para poder observar su patología.

En el presente estudio se estudiaron un total de 192 individuos del sexo femenino (67.4%) y 93 del sexo masculino (32.6%). Comparando los porcentajes de aislamiento de los microorganismos tanto de la flora normal como patógenos (Tabla N° 5 y N° 5.1), de ambos sexos observamos que el porcentaje para flora normal es de un 68.22% en el sexo femenino y para el masculino un 63.44%, mientras que para patógenos se obtiene un 31.77% y un 36.55% para sexo femenino y masculino respectivamente. Por lo que no se observa una diferencia significativa entre ambos sexos, esto nos hace suponer que no existen predominio en las frecuencias de aislamiento de cepas de acuerdo al sexo.

Solamente contamos con 99 datos en relación al número de cuartos entre el número de personas (INDICE) (Tabla N° 6), se observa que entre más pequeño es el índice (existen pocos cuartos, para un número mayor de integrantes de la familia) hay más posibilidad de contagio.

Numerosas observaciones sugieren que en países en desarrollo, una de las manifestaciones de la pobreza que más íntimamente se ha asociado con la fiebre reumática es el hacinamiento. De ese modo se demostró tempranamente (1937) que la incidencia de fiebre reumática era directamente proporcional al número de personas por cuarto. Asimismo se concluyó que ese hacinamiento facilitaba un contacto personal más estrecho así como la diseminación de las infecciones estreptocócicas y el incremento en su virulencia y reumatogenicidad.

Se determinó la susceptibilidad de *S. aureus* a doce antimicrobianos, por la técnica del antibiograma (Tabla N° 7), llama la atención la susceptibilidad a la penicilina, de los 53 antibiogramas realizados: 52 (98.12%) fueron resistentes a la penicilina y solamente 1 (1.88%) fue sensible. El otro antibiótico con un porcentaje parecido fue la ampicilina, se encontró que 49 (92.5%) fueron resistentes, sensibles 1 (1.9%) y con una sensibilidad media 3 (5.7%), por lo que se discutiría su utilidad como antimicrobianos de elección.

También podemos observar con respecto a la gentamicina que el porcentaje de sensibilidad media ya rebasa el 50% y que para eritromicina el porcentaje de resistencia es mayor con respecto a la sensibilidad y sensibilidad media. lo que se puede esperar a futuro es que tanto para eritromicina y gentamicina aumente el porcentaje de resistencia gradualmente.

Este mecanismo de resistencia es causado por diferentes factores, uno de los principales es la frecuencia con la que se automedicamenta nuestra población, por lo que se abusa de diversos medicamentos, o se utilizan en forma inadecuada, principalmente los antibióticos⁸, dosis insuficientes, la imposibilidad de establecer el diagnóstico etiológico en la inmensa mayoría de los casos, la eficaz propaganda comercial que realizan los laboratorios químico-farmacéuticos que induce al abuso de la prescripción de los medicamentos en general y de los antibióticos en particular y la venta sin control alguno de productos farmacéuticos a la población.

Como se ha mencionado anteriormente puede haber diversos microorganismos que son capaces de ocasionar inflamación faríngea; sin embargo, la mayoría de las faringitis o amigdalitis son de origen viral, por lo que el abuso de antimicrobianos sin conocer realmente cual o cuales son los agentes causantes de la enfermedad lo único que crea son cepas cada vez más resistentes a determinados antimicrobianos y por lo tanto favorece a que predominen otros microorganismos (por ejemplo gramnegativos); resistentes a estos antimicrobianos aumentando el riesgo de superinfección por estos agentes.¹³

Uno de los problemas que puede tener el no saber o no detectar exactamente el microorganismo que esta produciendo la enfermedad, son las secuelas que pueden producir, un ejemplo clásico es el del *Streptococo* β hemolítico del grupo A, que como consecuencia de una infección faringoamigdalina no tratada a tiempo, produce fiebre reumática y glomerulonefritis aguda

Tomando en cuenta estos datos se demuestra la utilidad del exudado faríngeo con su antibiograma para conocer la susceptibilidad antimicrobiana del paciente.

Por último, debemos considerar que la frecuencia de aislamiento de los microorganismos puede estar relacionada en cuanto a la toma, transporte, preparación de los medios de cultivo, así como la habilidad del personal de Laboratorio para el aislamiento de la cepa.

X. CONCLUSIONES

Por medio de la prueba de biodesafío se comprueba la eficiencia del autoclave, como equipo principal utilizado en el área de Bacteriología para la esterilización por calor húmedo.

El control de calidad para los medios de cultivo implica desde su preparación hasta su uso, por lo que se asegura su confiabilidad, obteniendo buenas prácticas de laboratorio y un aseguramiento de calidad total del proceso.

Los agentes que pueden causar IRA son muchos y no es fácil saber cuál de ellos es el responsable de una infección dada; en parte porque un agente infeccioso puede preparar el camino para que otro invada el aparato respiratorio o responder a otras asociaciones con otros microorganismo de otro género u otras especies.

La resistencia a antimicrobianos se ha incrementado por el uso indiscriminado de los mismos en los pacientes, por lo que en vez de resolver el problema de la infección, esta aumentando el número de cepas resistentes a los antimicrobianos de elección, que trae como consecuencia el uso de fármacos de más amplio espectro, que pueden barrer con la flora normal residente.

XI. RECOMENDACIONES

En cada lote de medios de cultivo preparado seguir realizando las pruebas de control de calidad, así como llevar su registro en una bitácora.

Se sugiere también realizar las pruebas de biodesafío para la olla express debido a su uso y su importancia en el área de microbiología.

Seguir una periodicidad de las pruebas de control de calidad para el autoclave y la olla express.

Se sugiere la búsqueda de virus, en las infecciones respiratorias superiores para realmente conocer cual es agente causal de la infección

Se sugiere que con ayuda del personal de salud se realicen programas para orientar a la población sobre el uso y complicaciones de la antibioterapia sin prescripción médica.

XII. ANEXOS
N° 1 CUESTIONARIO

ESTUDIO DEL DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES
RESPIRATORIAS SUPERIORES
UNIDAD MULTIDICPLINARIA DE ATENCION
INTEGRAL " LOS REYES "
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1.- IDENTIFICACION

NOMBRE: _____

EDAD: _____ SEXO: _____ PESO: _____ TALLA: _____

DOMICILIO: _____

OCUPACION: _____

ESCOLARIDAD: _____

2.- HABITOS HIGIENICOS

¿ ACOSTUMBRA EL BAÑO DIARIO? _____

FRECUENCIA _____

SE LAVA LAS MANOS: _____

ANTES DE INGERIR ALIMENTOS _____

DESPUES DE IR AL BAÑO _____

SE LAVA LOS DIENTES DESPUES DE INGERIR ALIMENTOS _____

FRECUENCIA _____

3.- CUADRO CLINICO

PIEBRE _____ CEFALEA _____

ESTORNIDOS _____ ADENOPATIA _____

RINORREA HIAL _____ TOS SECA _____

RINORREA PURUJ. _____ TOS PRODUCTIVA _____

DOLOR ABDOMINAL _____ NAUSEAS _____

RONQUERA _____ VOMITO _____

4.- TRATAMIENTO PREVIO

ANTIBIOTICOS: _____ TIPO: _____

OTROS MEDICAMENTOS: _____

REMEDIOS CASEROS: _____

OBSERVACIONES: _____

5.- EXPLORACION FISICA

MUCOSA NASAL: _____ FARINGE: _____

NORMAL = 1

HIPEREMIA LEVE = 2

HIPEREMIA SEVERA = 3

AMIGDALAS: _____

NORMAL = 1

HIPERTROFICAS = 2

HIPEREMICAS = 3

CON PUS = 4

AUSENTES = 5

SECRECIONES RETROFARINGEAS: _____

ADENOPATIA DOLOROSA*: _____

* SOLO MAYORES DE 6a.

SI = 1

NO = 2

6.- CONDICIONES DE VIVIENDA

TIENE CASA PROPIA: _____

TIPO DE CONSTRUCCION: _____

NUMERO DE CUARTOS EN TOTAL: _____

NUMERO DE PERSONAS QUE HABITAN EN TOTAL: _____

CUENTA CON TODOS LOS SERVICIOS: _____

EN CASO DE FALTARLE ALGUN(OS), MENCIONE CON CUALES

NO CUENTA: _____

ANEXO N° 2.- TOMA DE MUESTRA PARA LOS EXUDADOS FARINGEOS

Se debe dirigir hacia la cavidad oral abierta un foco de luz brillante por sobre el hombro de la persona que obtiene la muestra, de modo que el hisopo pueda ser guiado hacia la faringe posterior. Se instruye al paciente para que respire profundo y la lengua se hace descender suavemente con un abatelenguas. El hisopo se desliza entonces entre los pilares tonsilares y por detrás de la úvula, cuidando de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal. La emisión de un "aah" por parte del paciente sirve para elevar la úvula y ayuda a reducir el reflejo de la náusea. El hisopo se debe pasar rápidamente de un lado a otro de la faringe posterior a fin de obtener una muestra adecuada. Una vez recogida la muestra, el hisopo se debe colocar inmediatamente en un tubo estéril u otro recipiente apropiado para su posterior tratamiento.²⁹

A. Instrucciones a los pacientes: no tomar antimicrobianos cinco días antes de que se le tome la muestra. Si son de acción prolongada, en un tiempo que no quede dentro de los límites de su acción, venir en ayunas y sin asco bucal.

Toma de muestra:(seguir las indicaciones y precauciones antes mencionadas en recolección de muestras).

Conservación. La muestra debe sembrarse inmediatamente. Cuando es necesario aplazar la siembra más de una hora, se debe poner el hisopo en caldo ó en un medio de transporte (BHI ó Stuart) y conservarlo en el refrigerador.

ANEXO N° 3.- PRUEBA DE PROMOCION DE CRECIMIENTO

Los microorganismos empleados en las pruebas de promoción de crecimiento deben formar parte de la colección de cada laboratorio y deben estar identificados con la clave del cepario de procedencia. La selección de ellas depende del tipo de medio de cultivo por estudiar. Los medios de cultivos selectivos y diferenciales como el agar EMB, deben probarse con un microorganismo que fermente la lactosa (*E. coli*) uno que no la fermente (*Salmonella typhi*) y otro que sea inhibido (*S. aureus*).⁴²

Si el medio pretende inhibir específicamente un cierto microorganismo o un grupo de ellos, incluirlos en el ensayo (ejemplo: organismos coliformes en agar verde brillante o en agar SS), en tales casos debe observarse tanto la intensidad del desarrollo de los microorganismos deseables como las características de sus colonias (tamaño, color).⁴²

Para determinar el grado de inhibición que muestre el lote ensayado, incluir simultáneamente en la prueba un medio no inhibitorio como el agar soya tripticaseína (AST).⁴²

Los medios indicadores se prueban con cepas de referencia de comportamiento bien definido, tanto en sentido positivo como negativo para cada sustrato en estudio.⁴²

ANEXO N° 4.- REPARACIÓN Y ESTANDARIZACION DEL INOCULO (MICROORGANISMO DE PRUEBA)

Los cultivos empleados deben ser recientes: 18-24 horas para bacterias; 24-48 horas para hongos levaduriformes, y de 7 a 28 días para hongos filamentosos. Las temperaturas de incubación serán las óptimas para el microorganismo de que se trate.⁴²

MÉTODO

- 1.- Cosechar cada microorganismo de prueba en solución salina fisiológica (0.85%), regulador de fosfatos pH 7.2 o en agua peptonada pH 6.9±0.1.
- 2.- Preparar una suspensión con el diluyente seleccionado, de tal forma que a 580nm de una lectura espectrofotométrica entre 50 y 80% de trasmittancia.
- 3.- A partir de la suspensión obtenida anteriormente preparar diluciones decimales y mediante la técnica de vaciado en placa, seleccionar aquellas diluciones en las que se encuentren aproximadamente 10, 100 y 1000 UFC/ml, para este recuento utilizar agar para métodos estándar.⁴²

Medios de cultivo líquidos

- 1.- Preparar un volumen determinado del o de los medios de cultivo a probar.
- 2.- A cada uno de los tubos o recipientes que contienen el medio de cultivo, adicionar 1.0 ml de la suspensión del microorganismo de prueba que contenga entre 10 y 100 UFC/ml.
- 3.- Simultáneamente sembrar por duplicado 1.0 ml de la suspensión para la cuenta en placa, con el fin de confirmar la viabilidad y recuperación del inóculo.⁴²

Interpretación

- 1.- Si los tubos o recipientes que contienen el medio de cultivo inoculado presentan turbiedad y la cuenta en placa es la esperada, la prueba de promoción de crecimiento es correcta y el lote del medio de cultivo se aprueba para su uso.
- 2.- Si no se presenta desarrollo en los medios líquidos y la cuenta en placa es correcta, el lote del medio de cultivo debe rechazarse.
- 3.- Si no se presenta desarrollo en los medios líquidos ni en las placas, debe verificarse la viabilidad de los inóculos empleados y repetir la prueba.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

4.- Siempre que el crecimiento sea positivo debe verificarse que se trate del microorganismo de prueba y no de un contaminante.⁴²

Medios de cultivos sólidos

Medios de cultivos sólidos que se utilizan en el aislamiento, selección e identificación de los microorganismos.

a) Técnica de la gota de Miles-Mishra. Mediante esta técnica se puede demostrar la capacidad de promoción de crecimiento y las propiedades selectivas y diferenciales de los medios de cultivo.

1.- Preparar los medios de cultivo a probar siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante.

2.- En la zona bacteriológica del mechero o en una campana de flujo laminar, vaciar aproximadamente 15 ml del medio de cultivo a probar en cajas de Petri (vidrio o plásticos estériles de 90-100 mm) y dejar solidificar.

3.- Eliminar el exceso de humedad colocando las cajas ligeramente abiertas a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$, un periodo máximo de 3 horas.

4.- Dividir y marcar el fondo de cada placa en 3 segmentos.

5.- Con pipeta Pasteur estéril y calibrada para liberar gotas de 0.02 ml (50 gotas/ml) o bien con pipetas serológicas estériles de 0.1 ml graduadas en centésimas o usando asas calibradas a 0.01 ml, depositar cuidadosamente en cada segmento, 0.02 ml de la dilución del microorganismo de prueba que contiene aproximadamente 1000 UFC/ml. Ejemplo: Agar EMB.

6.- Cada segmento se inoculará con los siguientes microorganismos:

E. coli fermentador de la lactosa

Salmonella sp no fermentador de la lactosa

S. aureus no debe crecer

Paralelamente correr la prueba en agar-soya tripticaseína en las condiciones señaladas anteriormente para verificar el número de microorganismos y viabilidad.

7.- Con las tapas ligeramente abiertas permitir la absorción del inoculo a temperatura ambiente durante 15 minutos.

8.- Si se efectuó la siembra con asa, omita la recomendación anterior.

9.- Incubar las placas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 horas⁴²

b) Criterios de aceptación

1.- Si los medios de cultivo permiten el crecimiento de los microorganismos de prueba y éstos además presentan las características morfológicas y fisiológicas esperadas, el o los lotes de medio de cultivo se aprueban para su uso.

2.- Si él o los medios de cultivo de prueba no presentan desarrollo y éste se manifiesta en las placas testigo, el medio de cultivo no debe utilizarse.

3.- Si él o los medios de cultivo permiten el crecimiento de los microorganismos de prueba, pero éstos no expresan las características morfológicas y fisiológicas esperadas, el medio de cultivo no debe usarse para estos fines.

4.- Si el número de microorganismos encontrados en los medios de prueba no corresponden al esperado (50-75% de recuperación frente al medio control (AST), el medio de cultivo no debe aprobarse para su uso.

5.- En todos los casos debe comprobarse que el crecimiento corresponda a los microorganismos de prueba y no a contaminantes.⁴²

ANEXO Nº 5.- MEDIOS DE CULTIVO. CALIDAD DE TRABAJO

La calidad del trabajo microbiológico en el análisis rutinario en el laboratorio se basa en varios hechos; de entre ellos, los medios de cultivo adecuados es de primordial importancia.

Aún el mejor montaje de un laboratorio y la habilidad del analista, pierden todo su valor si la composición de los medios de cultivo no corresponden a la requerida. Cuando esto ocurre, las causas suelen ser:

- 1.- Defecto en la medición opeso de los ingredientes.
- 2.- Falta de frescura del medio, lo que genera pérdida de humedad, concentración de los componentes, ó bien degradaciones, oxidaciones o reacciones entre ellos.
- 3.- La presencia de residuos de detergente en el material de vidriería.
- 4.- Efecto germicida del agua utilizada en su preparación por la presencia de trazas de ciertas sustancias como impurezas.
- 5.- Defecto en el ajuste de pH desde antes de su esterilización opor efectos de calentamiento.
- 6.- Sustancias bacteriostáticas dentro de la formulación, con actividad no controlada (más baja o más alta que la requerida); colorantes, antibióticos, etc.
- 7.- Excesiva humedad en la superficie del medio, que favorece el desarrollo de colonias extendidas ó su confluencia.
- 8.- Sobrecalentamiento del medio al esterilizar sea por el empleo de temperaturas más elevadas ó por periodos más prolongados. Se pierde así el poder nutricional del medio, su capacidad diferenciadora ó su consistencia.
- 9.- Defecto en la preparación como ocurre cuando no se esterilizan por separado ciertos componentes del medio si no la mezcla completa (medio de Baird Parker), indebidamente se lleva al autoclave un medio de cultivo termosensible como es el agar sulfito de bismuto ó el agar bilis-rojo-violeta.
- 10.- El esterilizar medios de cultivo sobrantes suele así mismo traducirse en pérdida de sus características deseables.²⁷

XIII. BIBLIOGRAFIA

1. Avances de los trabajos del comité de elaboración de Guías oficiales de validación.
2. Barria, C.M., Gómez, R.T., Quiroga, V.A. y col. (1993). Factores asociados a la hospitalización del lactante por enfermedades respiratorias y síndrome diarreico agudo. *Rev.Chil.Pediatr.* 64(3):200-204
3. Breach MR.,(1972). Esterilización, Métodos y Control. El Manual Modemo, S.A.de C.V. México D.F.
4. Bristol Myers Squibb de México. (1994). Simposio Satélite Internacional: Infecciones Respiratorias. Nuevas Alternativas Terapéuticas. *Prescripción Médica*:31
5. Cárdenas, G. JM., Validación en procesos estériles.
6. Carleton, F. J. and Agalloco, J.P. (1986). *Validation of Aseptic Pharmaceutical*. New York. 1986.
7. Comité de Redacción de Guías Generales de Validación. *Proyectos de Norma Técnica que establece las Guías Generales de Validación*. Dirección General de Control de Insumos para la Salud. S.S.A
8. Escobedo, C.E., Feregrino, H.H., Drucker, Z. (1993). Infección de las vías respiratorias altas. *Rev Fac Med UNAM.* 36(2):97-102
9. Faringoamigdalitis: una enfermedad contagiosa (1994). *Farmacia action.* (106): 8-10
10. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicana.* (1988). 5ta.Edición. México D.F.
11. García, R.E., Pizarro, S.E., Sapián, L.A. y De la Fuente L.G. (1991). Estudio epidemiológico y etiológico de las infecciones respiratorias agudas (RIA) en niños menores de cinco años. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 33:109-119,
12. Gatica, M.R., Echániz, A.G., Rangel, F.H. y col. (1993). Colonización bacteriana nasofaríngea en niños que asisten a guardería y niños cuidados en casa. *Rev Inst Nal Enf Resp Méx.* 6(4):191-195
13. Giono C.S, García G.L, y col. (1994). Infecciones respiratorias agudas y crónicas. INDRE S.S.A. México D.F.
14. *Good Manufacturing Practices for pharmaceutical products.* WHO/PHARM/93.562:1-10
15. *Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico. Monografía Técnica N°2 (1989) CIPAM* México D.F.
16. Guiscafre H., Muñoz O. y col.(1987) Normas para el tratamiento de las infecciones respiratorias agudas. *Biol Med Hosp Infant Méx.* 44(1):58-64

17. Gutiérrez, G., Martínez, M., Guiscafré, H. y col. (1986). Encuesta sobre el uso de antimicrobianos en las infecciones respiratorias agudas en la población rural mexicana. *Bol Med Hosp Infant Méx.* 43(12): 761-767
18. IMSS "Laboratorio clínico. Procedimientos". (1978) México: 77 - 117, 133 - 147.
19. Infección por *S. pyogenes* y Fiebre reumática. *Infectología.* 12:769-772
20. Jawetz E.M, Melnick L.J, y col. (1990). *Microbiología Médica.* 13ª edición. El Manual Moderno, S.A. de C.V. México D.F.
21. Kaplan, L.E., Amren, P.D. (1992). Diagnosing Streptococcal Pharyngitis. *JAMA.* 268 (5): 599.
22. Koneman W. Elmer, Allen D. Stephen, y col. (1989). *Diagnóstico Microbiológico.* Editorial Médica Panamericana. Argentina Buenos Aires:15-29, 145-150.
23. Lennette, H.C. y col. (1982) *Microbiología Clínica.* Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina Buenos Aires: 40-43.
24. Libreros V., Guiscafré H. y col. (1992). Patrones de Prescripción terapéutica en diarrea e infecciones respiratorias agudas en dos Instituciones de Salud S.S. e IMSS. *Gac Med Mex.* 128(5): 505-513
25. Lisker H.A., Aguilar M.J., Alvarez C.T. El cultivo de exudado faríngeo. Observaciones sobre su uso habitual. *Gac. Med. Mex.* 128: Mar-Abr.
26. Loftus, B. T. and Nash, R. A. (1984). *Pharmaceutical Process validation.* New York. USA.
27. *Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria.* (1983). IPN
28. McGee, A.Z., Woods, L.M. (1987). Use of organ cultures in microbiological research. *Ann Rev Microbiol.* 41:291-300.
29. *Medios de cultivo.* Bioxon. México.
30. Merck. (1988). *Culture Media Handbook.*
31. Miller, L.D. (1984). Investigaciones y estrategias para el estudio de infecciones respiratorias agudas de la infancia. *Bol Of Sanit Panam.* 96(3):205-211
32. Peña R. A. (1983). Validación de procesos. Seminario de validación de Métodos y procesos Vitrium S.A. de C.V.,
33. Pio, A., Leowski, J., Luelmo, F. (1984). Programa de la Organización Mundial de la Salud de infecciones respiratorias agudas en la infancia. *Bol Of Sanit Panam.* 96(4):283-293

1. PMA'S Validation advisory committee. Process Validation Concepts for Drug Products. Pharmaceutical Technology
5. Riehar D.R. (1984) Steam Sterilizer Design and GMP Compliance, Pharmaceutical Engineering.
6. Rodríguez, J.J. (1994). Frecuencia de infecciones respiratorias agudas, recurrentes y crónicas persistentes, en Ecatepec, Estado de México. Infectología. (8):396-400.
7. Sindy, M. F. (1989). Diagnóstico Microbiológico. Bailey Scott. Séptima edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina Buenos Aires.
8. Tomé P., Guiscafne H. y col. (1992). Avances en los criterios diagnósticos y terapéuticos en las infecciones respiratorias agudas. Gac Med Mex 128(5):565-571.
9. Tomé, P., Guiscafne H. y col.(1992). Características clínicas de los pacientes. Gac Med Mex 128(5):515-521.
0. Tomé, P., Guiscafne H. y col.(1992) Factores de riesgo de mortalidad en diarrea e infecciones respiratorias agudas en niños menores de cinco años. Gac Med Mex 128(5):589-595
11. Tortora J. G. y col. (1989). Principios de anatomía y fisiología. Quinta edición. Editorial Harla, México, D.F.: 715-716
12. Validación. Medios de cultivo. (1990). México, D.F.
13. Validation of Steam Sterilization Cycles.(1978) Technical Monograph No.1, Parental Drug Association, Inc.
14. Wyngaarden, J.B., Lloyd S.H. (1991). Cecil, Tratado de Medicina Interna. 18a. edición. Editorial Interamericana. México D.F.:433-434
15. Youmans, G.P. (1982). Infectología Clínica. 2a. edición. Editorial Interamericana. México, D.F.: 209-234, 857-931

FE DE ERRATAS

En el título de la tesis no es PATOLOGICOS sino PATOGENOS