



***X Jornadas Bioquímicas
Provinciales***



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS
FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA
ESPECIALIZACIÓN EN BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

TRABAJO FINAL

**AGENTES ETIOLÓGICOS RESPONSABLES
DE CONJUNTIVITIS BACTERIANA
EN NEONATOS EN UN HOSPITAL NEUQUINO
DE COMPLEJIDAD VI**

Realizado por la Lic. en Bioquímica R. Esther Chavarría, bajo la dirección de la
Dra. María Laura Vaca Ruiz 

AÑO 2017

Trabajo realizado en el Hospital Dr. Horacio Heller (Nivel VI de complejidad hospitalaria)



Centros de salud

- San Lorenzo Norte
 - San Lorenzo Sur
 - Colonia Rural Nueva Esperanza
 - Almafuerte
- A blue arrow points from the hospital image down to this list of health centers.

Hospital Dr. Horacio Heller



- Aprox. 1400 nacimientos por año



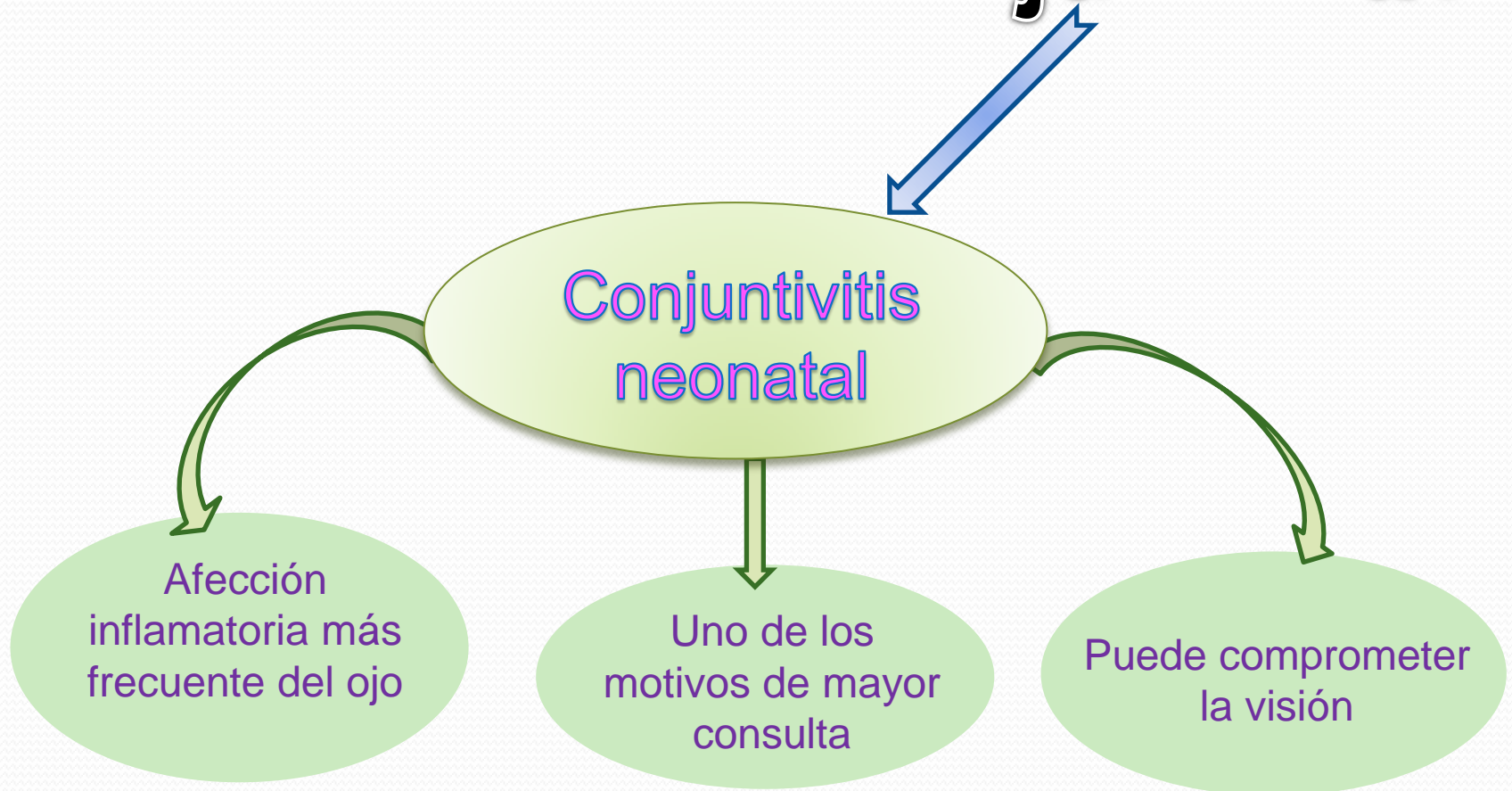
- 73% parto vaginal



- 100% neonatos se le administra eritromicina tópica (0,5%)

INTRODUCCIÓN

Conjuntivitis



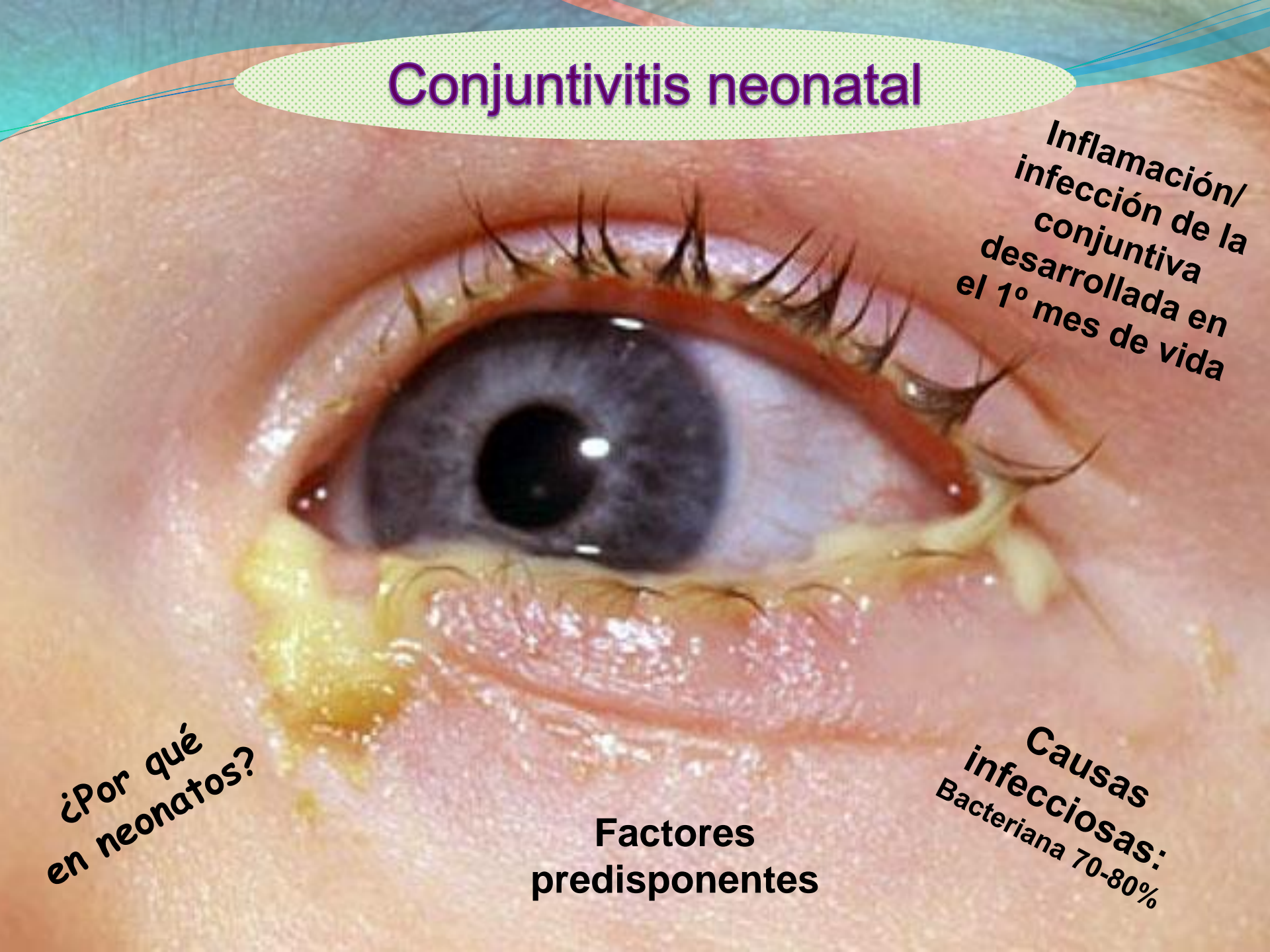
Conjuntivitis neonatal

Inflamación/
infección de la
conjuntiva
desarrollada en
el 1º mes de vida

¿Por qué
en neonatos?

Factores
predisponentes

Causas
infecciosas:
Bacteriana 70-80%



Conjuntivitis neonatal bacteriana

Gérmenes comunes

Estafilococos
Estreptococos
Moraxella catarrhalis
Haemophilus influenzae
Enterobacterias y BNNF



Neisseria gonorrhoeae



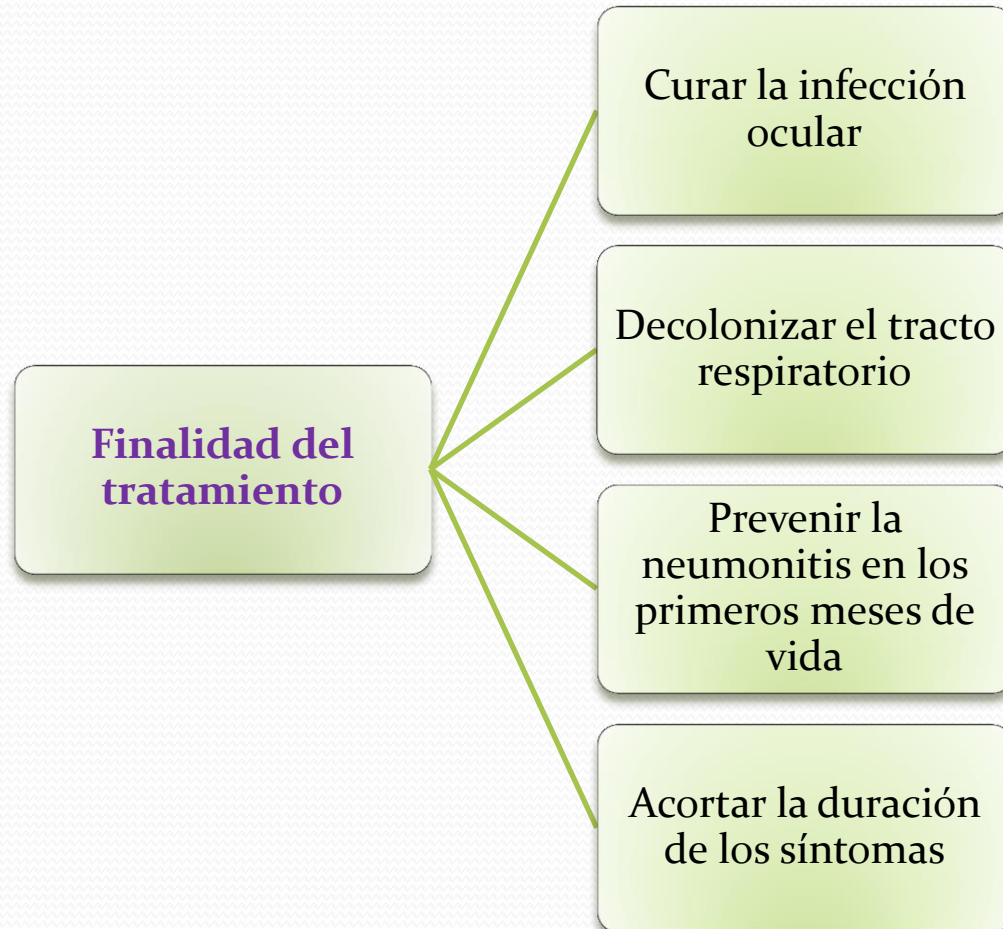
Chlamydia trachomatis



Diagnóstico por cultivo convencional:
agar Thayer Martin y agar chocolate

Diagnóstico por
inmunofluorescencia directa
(IFD)

Conjuntivitis neonatal bacteriana



OBJETIVOS

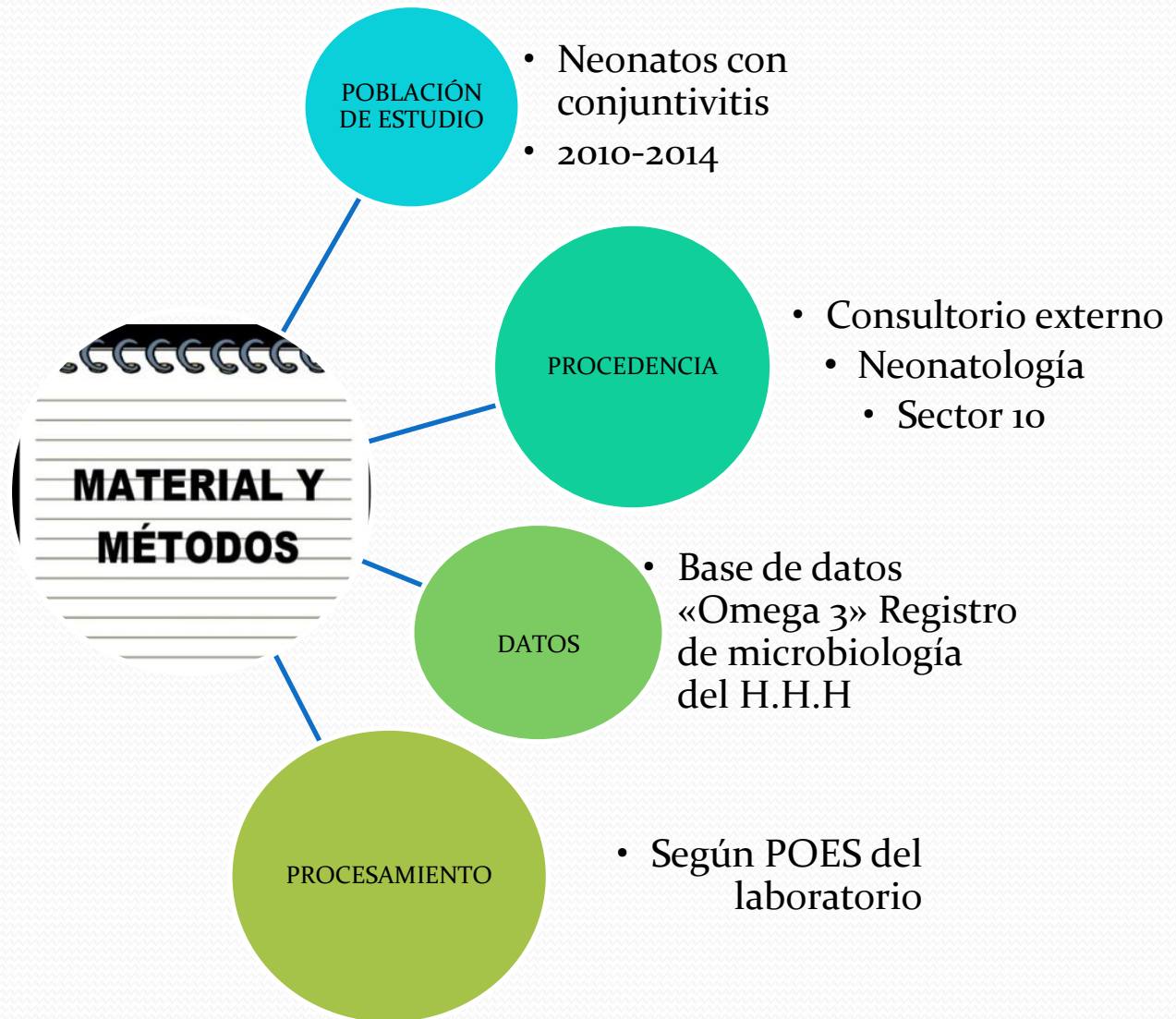
OBJETIVO GENERAL

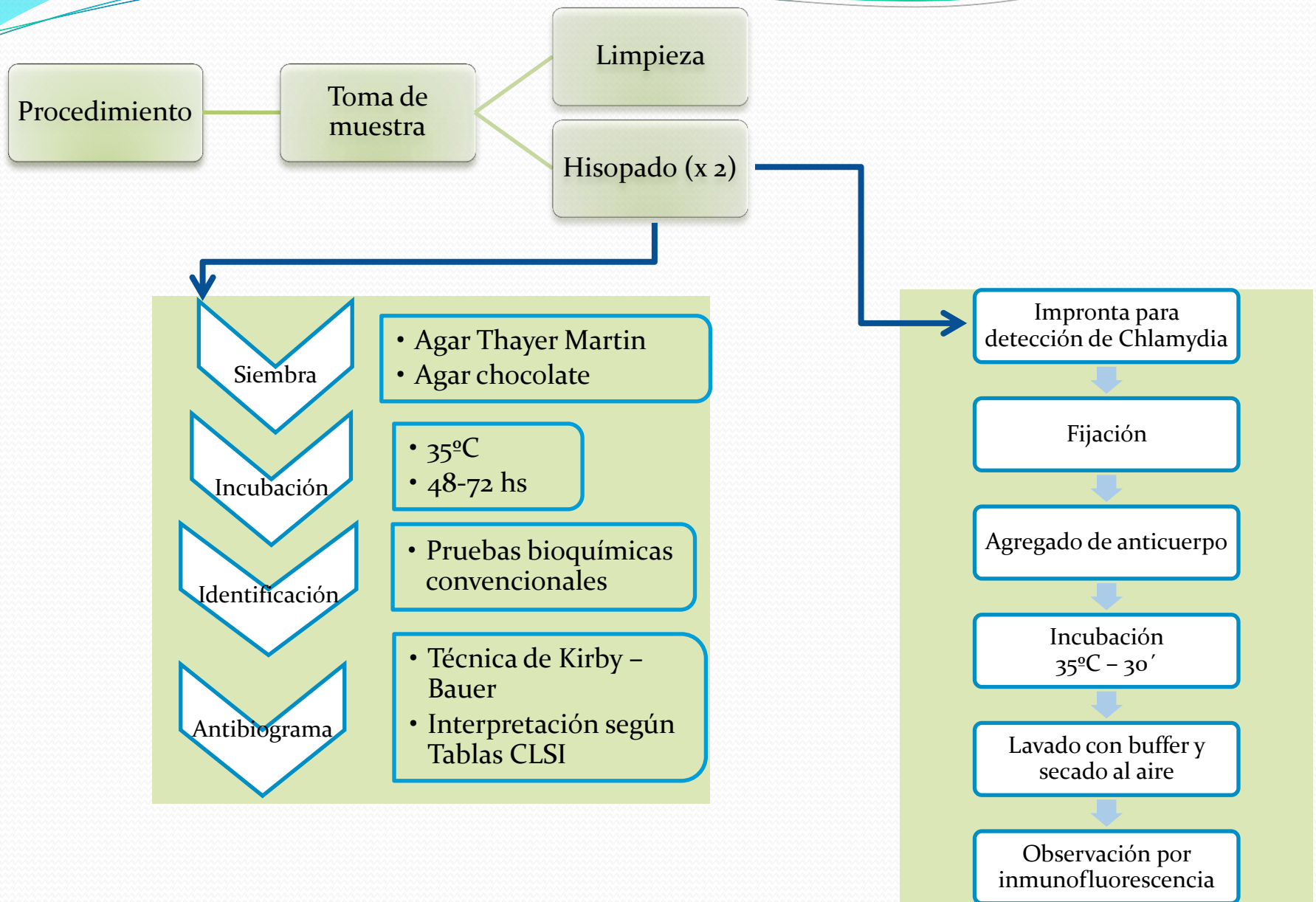
Conocer la etiología de los agentes responsables de la conjuntivitis bacteriana en neonatos en el H.H.H.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Aislar los agentes bacterianos a partir de secreciones conjuntivales.
- ✓ Identificarlos por pruebas bioquímicas.
- ✓ Determinar la sensibilidad antimicrobiana.
- ✓ Detectar *C. tracomatis* por IFD.
- ✓ Comparar los aislamientos obtenidos desde muestras de pacientes provenientes de Consultorio externo (CE), internado en Neonatología (NEO) e internado en Sector 10 (internación conjunta madre e hijo).
- ✓ Relevar los datos de los registros bacteriológicos de los hisopados conjuntivales realizados entre Enero de 2010 y Diciembre de 2014.
- ✓ Analizar estadísticamente los resultados comparando con datos disponibles en Argentina

MATERIALES Y MÉTODOS





Identificación bioquímica



Haemophilus influenzae.
Satelitismo (+)



Staphylococcus aureus.
Prueba de Acidez anaeróbica del manitol (+) y coagulasa (+)



Moraxella catarrhalis.
Prueba de DNasa (+)



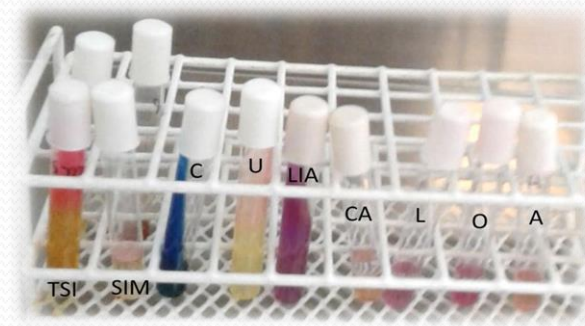
Streptococcus pneumoniae. Prueba de optoquina sensible



Klebsiella oxytoca. TSI: A/A, gas (+), H₂S (-); C (+); U (+); SIM: H₂S (-), indol (+), movilidad (-); CA (-); L (+); A (-); O (-).



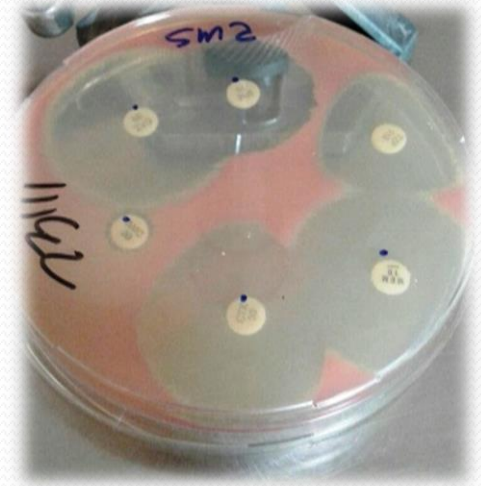
Enterobacter cloacae. TSI: A/A, gas (+), H₂S (-); C (+); U (+); SIM: H₂S (-), indol (-), movilidad (+); CA (-); L (-); A (+); O (+).



Serratia marcescens. TSI: K/A, gas (+), H₂S (-); C (+); U (+); SIM: H₂S (-), indol (-), movilidad (+); CA (-); L (+); A (-); O (+).

Antibiograma

Antibiograma por difusión



Interpretación de
halos de sensibilidad
según tablas del
CLSI

Table 2E. Zone Diameter and Minimal Inhibitory Concentration Interpretive Standards for *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: HTM Broth dilution: HTM broth
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard prepared using colonies from an overnight (preferably 20- to 24-hour) chocolate agar plate [see comment (2)]
Incubation:	35°C ± 2°C; Disk diffusion: 5% CO ₂ ; 16–18 hours Broth dilution: ambient air; 20–24 hours

Routine QC Recommendations (See Tables 4A, 4B, 5A, and 5B for acceptable QC ranges.)

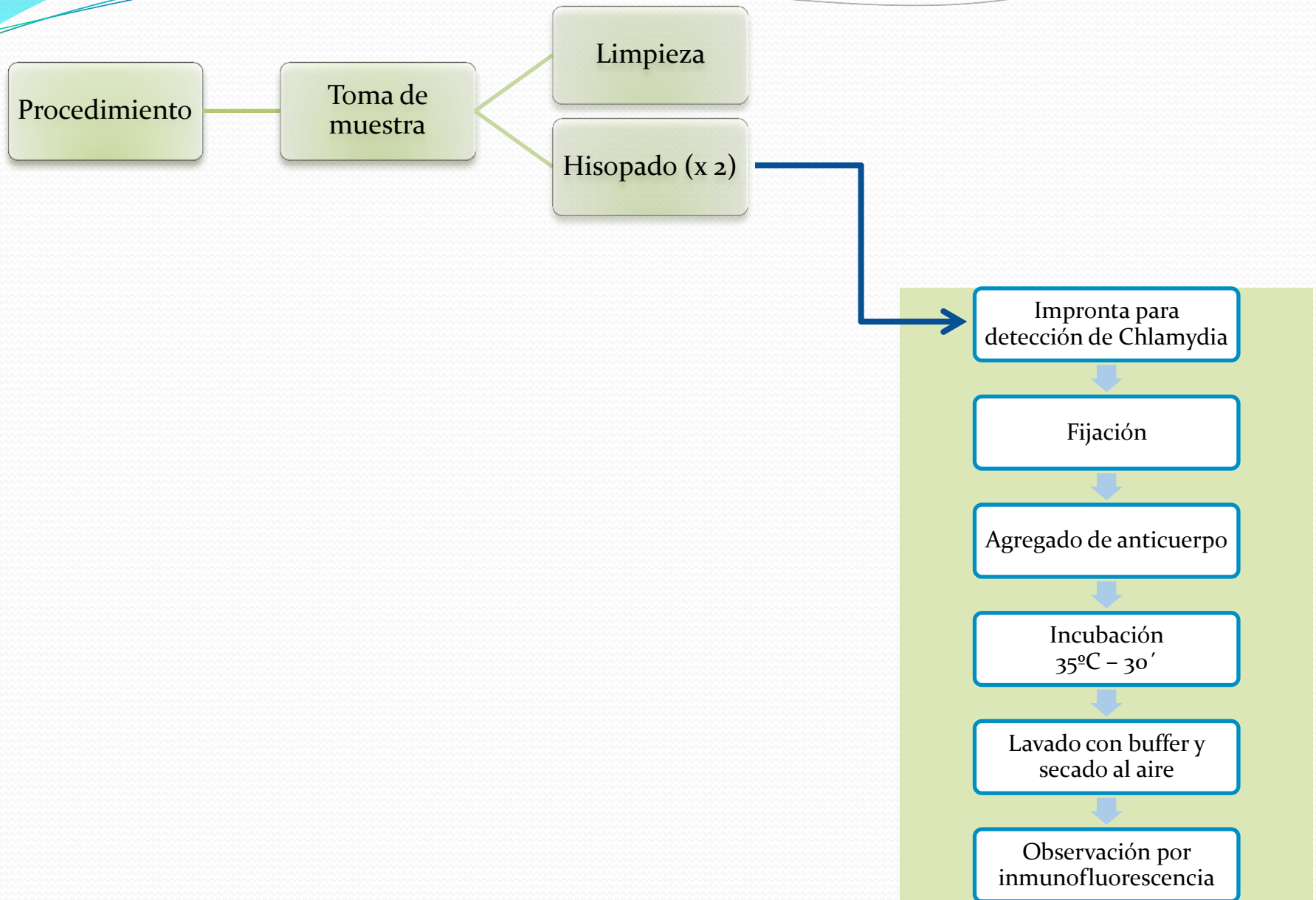
Haemophilus influenzae ATCC® 49247

Haemophilus influenzae ATCC® 49766

Use either *Haemophilus influenzae* ATCC® 49247 or *Haemophilus influenzae* ATCC® 49766 or both of these strains, based on the antimicrobial agents to be tested. Neither strain has QC ranges for all agents that might be tested against *H. influenzae* or *H. parainfluenzae*.

Escherichia coli ATCC® 35218 (when testing amoxicillin-clavulanate)

When a commercial test system is used for susceptibility testing, refer to the manufacturer's instructions for QC test recommendations and QC ranges.



Detección de *Chlamydia trachomatis*



Kit comercial



Microscopio de
immunofluorescencia



Observación
microscópica

DISEÑO

- Estudio observacional de diseño transversal (estudio de prevalencia).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

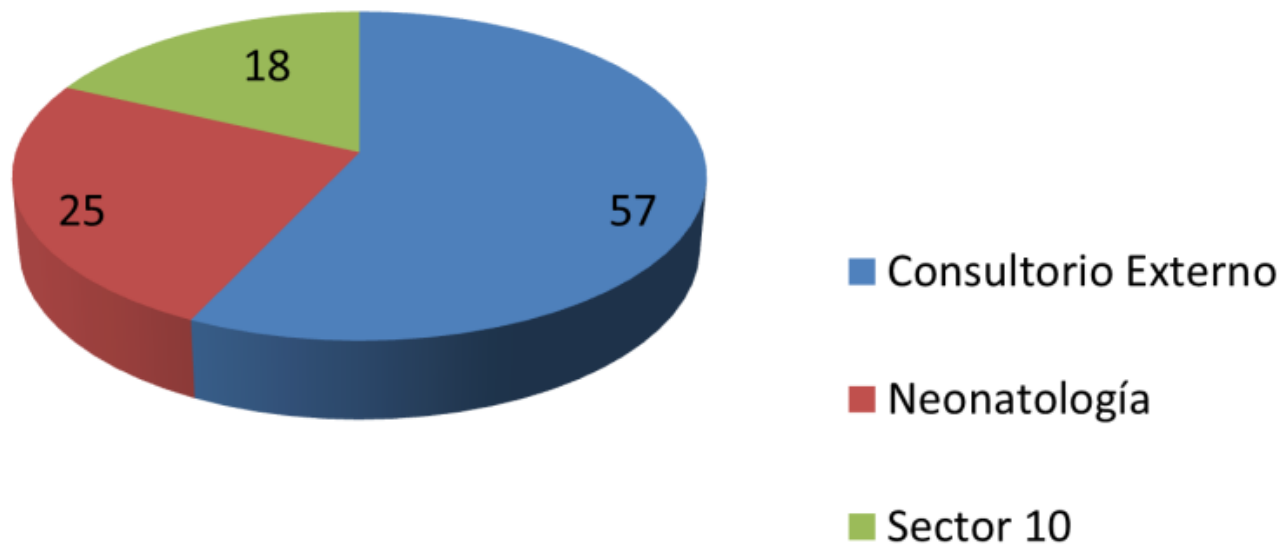
- Se presentaron los datos en forma de proporciones utilizando estadística descriptiva. Para la comparación de datos cualitativos se utilizó el test de X^2 . Se utilizó el programa SPSS 11 para el análisis de los datos.

RESULTADOS

Edad promedio de los neonatos

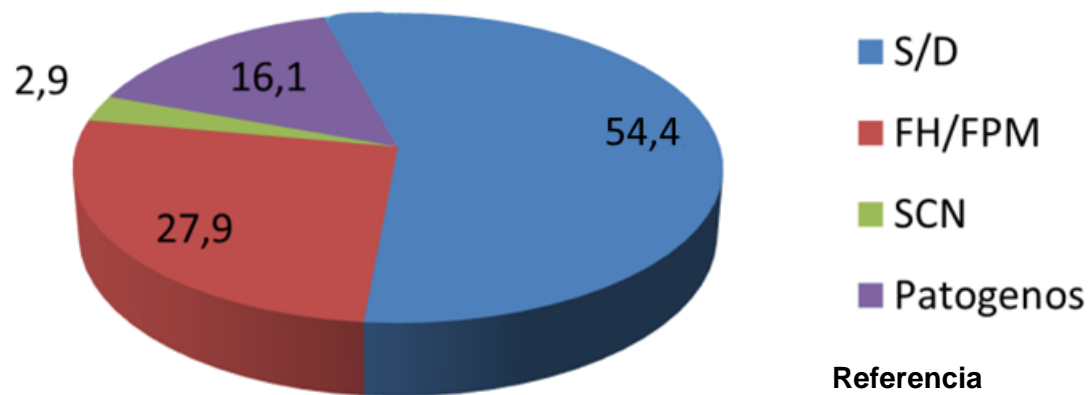
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad (días)	68	1	28	8,68	6,845

Procedencia de los 68 neonatos con conjuntivitis (%)



Distribución de la procedencia de los 68 neonatos

Resultados obtenidos de cultivos de hisopados de conjuntiva de 68 neonatos (%)



Referencia

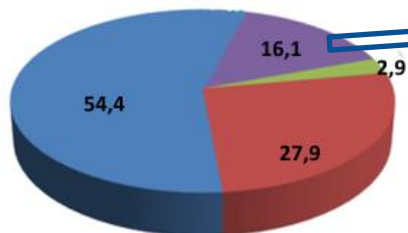
S/D: sin desarrollo;

FH/FPM: flora habitual/flora polimicrobiana;

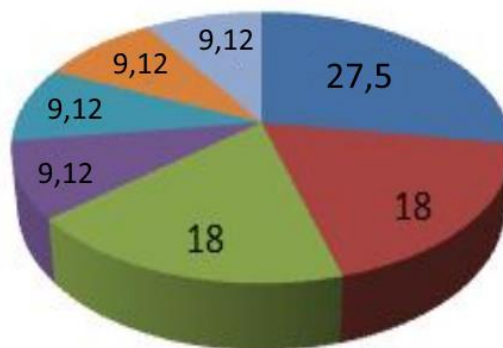
SCN: estafilococos coagulasa negativa

Resultados obtenidos de cultivos de hisopados de conjuntiva de 68 neonatos (%)

■ S/D
■ FH/FPM
■ SCN
■ Patógenos



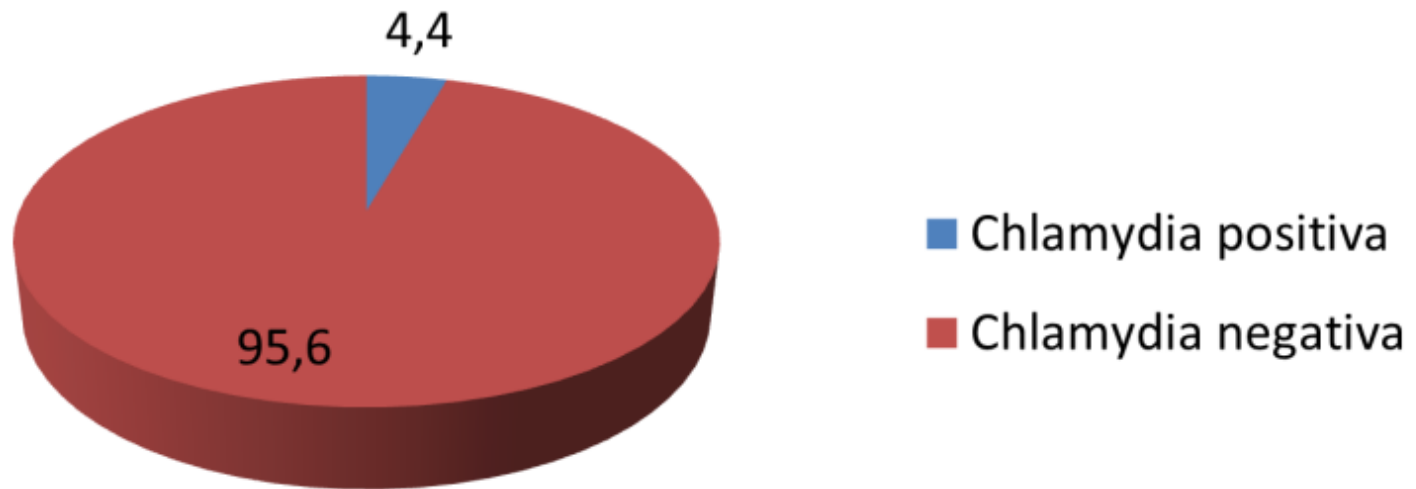
Bacterias recuperadas por cultivo (%)



■ *H.influenzae*
■ *S.aureus*
■ *M.catarrhalis*
■ *S.pneumoniae*
■ *K.oxytoca*
■ *E.cloacae**
■ *S.marcescens*

* asociado a *M. catarrhalis*

Porcentaje de detección de *Chlamydia trachomatis* por IFD (%)



Relación entre la procedencia de los neonatos y las bacterias detectadas

Bacterias detectadas	Procedencia del neonato	
	Internado	Ambulatorio
<i>H. influenzae</i> (3)		XXX
<i>S. aureus</i> (2)		XX
<i>M. catarrhalis</i> (2)	XX	
<i>S. pneumoniae</i> (1)		X
Enterobacterias (3)	XXX	
<i>C. trachomatis</i> (3)	X	XX

Perfiles de sensibilidad

Perfil de Sensibilidad de *H. influenzae*

Bacteria	Ampi	AMC	CEC	CXM	NAL	TMS	CMP	AZT
<i>Haemophilus influenzae</i> (1)	S	S	S	S	S	S	S	NP
<i>Haemophilus influenzae</i> (2)	S	S	S	S	S	S	S	NP
<i>Haemophilus influenzae</i> (3)	S	S	S	S	S	S	S	S

Referencia

Ampi (ampicilina), AMC (amoxicilina+clavulánico), CEC (cefactor), CXM (cefuroxima), NAL (ácido nalidíxico), TMS (trimetoprima-sulfametoxazol), CMP (cloranfenicol), AZT (azitromicina)

S: SENSIBLE NP: no probado

Perfil de Sensibilidad de *S. aureus*

Bacteria	OXA	GEN	RFA	TMS	ERI	CLI	FOX	CIP	VA	TEI	LZD	MNO	TIG	FUS
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i> (2)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Referencia

OXA (oxacilina), GEN (gentamicina), RFA (rifampicina), TMS (trimetoprima-sulfametoxazol), ERI (eritromicina), CLI (clindamicina), FOX (cefoxitina), CIP (ciprofloxacina), VA (vancomicina), TEI (teicoplanina), LZD (linezolid), TIG (tigeciclina), FUS (ácido fusídico)

S: SENSIBLE R: RESISTENTE

Perfiles de sensibilidad

Perfil de Sensibilidad de *S. pneumoniae*

Bacteria	Ampi	PENI	AMC	ERI	CLI	TMS	LEVO
<i>S. pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S	S

Referencia

Ampi (ampicilina), PENI (penicilina), AMC (amoxicilina+clavulánico),
ERI (eritromicina), CLI (clindamicina),
TMS (trimetoprima-sulfametoxazol), LEVO (levofloxacin),

S: SENSIBLE

Perfil de Sensibilidad de Enterobacterias

Bacteria	Ampi	AMC	CEF	CTX	GEN	CIP	TMS
<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	R	S	S	S	S
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	S	S	S	S

Referencia

Ampi (ampicilina), AMC
(amoxicilina+clavulánico),
CEF (cefalotina), CTX (cefotaxima),
GEN (gentamicina), CIP (ciprofloxacina),
TMS (trimetoprima-sulfametoxazol)

S: SENSIBLE R: RESISTENTE

DISCUSIÓN

Comparación entre los hallazgos microbiológicos entre este estudio y los publicados por el Dr. Di Bartolomeo (2)

Microorganismo	Periodo				Chi ² (X ²)	p
	2010-2014 ⁽¹⁾ n=11 ¹		1999-2003 ⁽²⁾ n= 250 ²			
	n	%	n	%		
<i>Haemophylus influenzae</i>	3	27,5	64	25,6	0,02	0,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	18	69	27,6	0,47	0,49
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2	18	13	5,2	3,28	0,07
<i>S. pneumoniae</i>	1	9	68	27,2	1,78	0,18
Otros*	3	27,5	20	8	4,87	0,02

¹ 11/68 ² 250/628

**Pseudomonas aeruginosa*, *Neisserias spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*.

DISCUSIÓN

Comparación entre la identificación de *Chlamydia trachomatis* en este estudio y los publicados por el Dr. Di Bartolomeo (2)

Microorganismo	Periodo				Chi ²	p
	2010-2014 ^(Tesis) n=68		1999-2003 ⁽²⁾ n= 571			
	n	%	n	%		
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3	4,4	45	7,8	1,05	0,3

DISCUSIÓN

Artículos (Autores, lugar, año publicación)	BACTERIAS RECUPERADAS POR CULTIVO (%)						
	H.i	S.a	M.cat	S.p	K.sp	E.sp	S.sp
Chavarría (Argentina, 2016) (n=68)	27,5	18,0	18,0	9,0	9,0	9,0	9,0
Di Bartolomeo y Col. (Argentina, 2005) (n=628)	25,6	27,6	5,2	27,2	-	-	-
De Faber y Col. (Holanda, 2008) (n=64)	8,0	19,0	-	7,0	-	-	-
Valencia y Col. (Chile, 2000) (n=162)	5,5	9,8	4,3	8,0	-	-	-
Chang y Col. (Hong Kong, 2006) (n=90)	2,0	36,0	2,0	-	2,0	6,0	3,0
Díaz y Col. (Portugal, 2013) (n=1492)	1,6	8,2	-	1,6	9,8	11,5	27,9

Referencia

H.i: *Haemophylus influenzae*; S.a: *Staphylococcus aureus*; M.cat: *Moraxella catarrhalis*; S.p: *Streptococcus pneumoniae*;
K.sp: *Klebsiella* sp.; E.sp: *Enterobacter* sp.; S.sp: *Serratia* sp.

DISCUSIÓN

Artículos (Autores, lugar, año publicación)	DETECCIÓN DE <i>C. trachomatis</i> (%)
Chavarría (Argentina, 2016) (n=68) IFD	4,4
Di Bartolomeo y Col. (Argentina, 2005) (n=571) EIE PCR	7,8
De Faber y Col. (Holanda, 2008) (n=64) PCR	64,0
Valencia y Col. (Chile, 2000) (n=162) IFD PCR	8,8
Chang y Col. (Hong Kong, 2006) (n=90) IFD CULTIVO	21,0

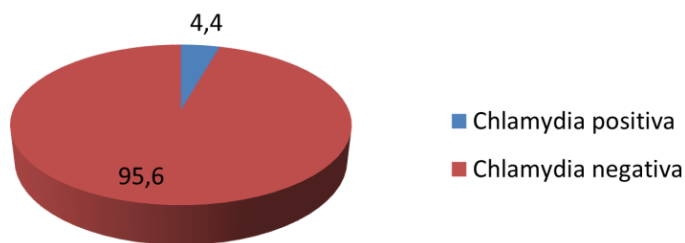
CONCLUSIÓN

Este estudio permitió...

- Reconocer a *H. influenzae*, *S. aureus* y *M. catarrhalis* como patógenos prevalentes en la conjuntivitis neonatal diagnosticada en el H.H.H.
- Relacionar las bacterias halladas con la procedencia del neonato para orientar el tratamiento empírico.
- Conocer el amplio espectro de sensibilidad que presentó la mayoría de los aislamientos bacterianos.
- Revisar el proceso de evaluación de la muestra en su conjunto.
- Valorar la metodología de detección de *C. trachomatis*.

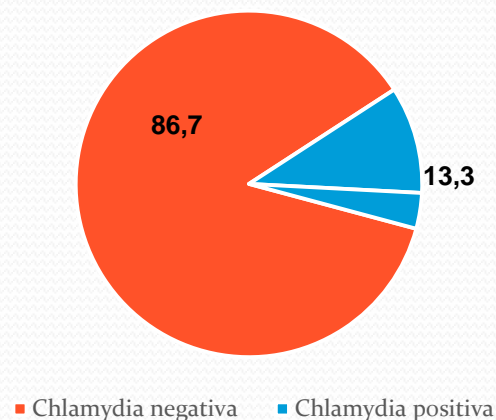
Detección de *Chlamydia trachomatis* por IFD y PCR – Período 2015 - 2017

Porcentaje de detección de *Chlamydia trachomatis* por IFD (%)



Período
2010-2014

Porcentaje de detección de *Chlamydia trachomatis* por IFD – PCR (%)



Muchas gracias...

