UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

MAESTRÍA EN LABORATORIO CLÍNICO, COHORTE 2023

Tema: COINCIDENCIAS DEL DIAGNÓSTICO DEL GÉNERO S*TREPTOCOCCUS* ENTRE MÉTODO MANUAL Y EL MÉTODO AUTOMATIZADO EN EL LABORATORIO AUTOMATIZADO ZAMORA.

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del Título de Cuarto Nivel de Magister en Laboratorio Clínico mención Microbiología Clínica, Cohorte 2023, modalidad presencial.

Modalidad del Trabajo de Titulación: Proyecto de Desarrollo

Autora: Licenciada Zamora Sánchez María Cristina

Director: Bioquímico Farmacéutico Guangasig Toapanta Víctor Hernán Magister

Ambato – Ecuador

2024

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias de la Salud

El Tribunal receptor del Trabajo de Titulación, presidido por: Doctor Elena Vicenta Hernández Navarro PhD, e integrado por los señores: Licenciada Gabriela Paola Valenzuela Sánchez Magister y Licenciada Elena Johana Pérez Laborde Magister, designados por la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, para receptar el Trabajo de Titulación con el tema: *"Coincidencias del diagnóstico del género Streptococcus sp entre método manual y el método automatizado en el Laboratorio automatizado Zamora"* elaborado y presentado por la señora Licenciada María Cristina Zamora Sánchez**,** para optar por el Título de cuarto nivel de Magíster en Laboratorio Clínico mención Microbiología Clínica; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación, el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.



Dr. Elena Vicenta Hernández Navarro PhD.
Presidente y Miembro del Tribunal



Lic. Gabriela Paola Valenzuela Sánchez Mg.
Miembro del Tribunal



Lic. Elena Johana Pérez Laborde MSc.
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Titulación presentado con el tema: "Coincidencias del diagnóstico del género Streptococcus entre método manual y el método automatizado en el laboratorio automatizado Zamora", le corresponde exclusivamente a Licenciada María Cristina Zamora Sánchez**,** Autora bajo la Dirección de Bioquímico Farmacéutico Víctor Hernán Guangasig Toapanta Magister Director del Trabajo de Titulación, y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

MARIA CRISTINA ZAMORA SANCHEZ

Firmado digitalmente por MARIA CRISTINA ZAMORA SANCHEZ
Fecha: 2024.09.26 15:31:28 -05'00'

Licenciada María Cristina Zamora Sánchez
C.C.:180406837-5
AUTORA

Firmado electrónicamente por:
VICTOR HERNAN GUANGASIG TOAPANTA

Bioquímico Farmacéutico Víctor Hernán Guangasig Toapanta Magister
C.C.: 180338438-5
DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.

MARIA CRISTINA ZAMORA SANCHEZ

Firmado digitalmente por MARIA CRISTINA ZAMORA SANCHEZ
Fecha: 2024.09.26 15:30:51 -05'00'

Licenciada María Cristina Zamora Sánchez
C.C.: 180406837-5

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PORTADA I
A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias de la Salud II
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN III
DERECHOS DE AUTOR IV
AGRADECIMIENTO X
DEDICATORIA XI
RESUMEN EJECUTIVO XII
CAPITULO I 1
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 1
1.1. INTRODUCCIÓN 1
1.2. JUSTIFICACIÓN 3
1.3. OBJETIVOS 4
1.3.1. Objetivo General: 4
1.3.2. Objetivos específicos: 4
CAPITULO II 5
MARCO TEÓRICO 5
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS 5
2.2. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA 11
2.2.1. Streptococcus viridans 11
2.2.2. Streptococcus pneumoniae 12
2.2.3. Streptococcus pyogenes 13
2.2.4. IDENTIFICACIÓN DE MICRORGANISMOS POR MÉTODO MANUAL 14
2.2.5. IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS ORALES POR MÉTODO AUTOMATIZADO 16
2.2.6. COINCIDENCIAS POR EL MÉTODO KAPPA FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 18
2.2.7. HABILIDADES EN EL LABORATORIO 18
CAPÍTULO III 20
MARCO METODOLÓGICO 20
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN 20
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA 20

3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN 21
3.3. PRUEBA DE HIPÓTESIS: 22
3.4. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN 22
3.4.1. RECURSOS MATERIALES 22
3.4.2. RECURSOS HUMANOS: 23
3.4.3. RECOPILACIÓN DE DATOS 23
3.4.4. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA 23
3.5. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO 26
CAPÍTULO IV 27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27
4.1. RESULTADOS 27
4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS. 36
4.3. DISCUSIÓN 40
CAPÍTULO V 43
CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS 43
5.1. CONCLUSIONES 43
5.2. RECOMENDACIONES 44
5.3. BIBLIOGRAFÍA 44
5.4. ANEXOS 49
CAPÍTULO VI 67
PROPUESTA 67
6.1 TITULO 67
6.2 DESCRIPCIÓN 67
6.3 DESARROLLO DE LA PROPUESTA 67
IDENTIFICACIÓN MEDIANTE EL METODO MANUAL 69
6.3.1 OBJETIVO: 69
6.3.2 ALCANCE 69
6.3.3 RESPONSABLES 69
 DEFINICIONES 69
6.3.4 MATERIALES Y EQUIPOS 71
6.3.5 PROCEDIMIENTO 71
6.3.5.1 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DEL PACIENTE 71
6.3.5.2 TOMA DE MUESTRA 71

6.3.5.3 SIEMBRA DE LA MUESTRA 72
6.3.5.4 OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN 72
6.3.5.5 RESULTADOS 73
6.3.5.6 CAPACITACION AL PERSONAL 74
6.4 IDENTIFICACIÓN CON EL EQUIPO AUTOMATIZADO VITEK 2 75
6.4.1 OBJETIVO: 75
6.4.2 ALCANCE 75
6.4.3 UBICACIÓN 75
6.4.4 RESPONSABLES 75
6.4.5 DEFINICIONES 75
6.4.6 MATERIALES Y EQUIPOS 76
6.4.7 PROCEDIMIENTO 77
RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DEL PACIENTE 77
6.4.7.1 TOMA DE LA MUESTRA 77
6.4.7.2 SIEMBRA DE LA MUESTRA 77
6.4.7.3 OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN 78
6.4.7.4 MÉTODO AUTOMATIZADO 78
6.4.7.5 PROCEDIMIENTO 79
6.4.7.6 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 80
6.4.7.7 CONTROL DE CALIDAD 80
REFERENCIAS: 82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prueba rápida de catalasa para identificar Streptococcus sp. Laboratorio Clíinico Zamora 2024. 28
Figura 2. Resultados de la identificación manual. Laboratorio Clínico Zamora 2024. 29
Figura 3. Prueba Bilis Esculina para diferenciar Enterococcus sp. de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024..... 30
Figura 4. La prueba de Batricina para identificacion de especies de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024..... 31
Figura 5. Prueba de Optoquina para identificación de especies de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024..... 32
Figura 6. Resultados de la identificacón manual. Laboratorio Clínico Zamora 2024. 33
Figura 7. Resultados de la identificación automatizada en el equipo Vitek 2 Compact. Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato 2024..... 34
Figura 8.Resultados de la identificacion manual Vs automaitzada. Laboratorion Clínico Zamora y Laboratorio Clínico de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato 2024. 35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 CONSENTIMIENTO INFORMADO 49
Anexo 2 CONDICIONES PARA LA TOMA DE LA MUESTRA 51
Anexo 3 MATERIALES 51
Anexo 4 EQUIPOS 53
Anexo 5 MÉTODO MANUAL 55
Anexo 6 MÉTODO AUTOMATIZADO 62
Anexo 7 FIRMA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO 64
Anexo 8 REPORTE AUTOMATIZADO 65
Anexo 9 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 65

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por la fortaleza y sabiduría para poder alcanzar esta nueva meta en mi vida profesional.

A mis padres y hermanos que siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos.

De manera especial a mi amado esposo Edgar e hijos Luis David y Mathias, ellos son los que, con su cariño, paciencia me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades que se presentaron.

Un agradecimiento a mi tutor el Bioquímico Farmacéutico Víctor Hernán Guangasig Toapanta Magister por la paciencia y ayuda prestada.

DEDICATORIA

Esta dedicatoria está dirigida a mis hijos, esposo y mis padres, por todo el apoyo incondicional, por inculcar en mi la importancia de estudiar, superarnos cada día y por ser ellos la inspiración para culminar esta etapa.

RESUMEN EJECUTIVO

El género *Streptococcus sp.* son cocos gram positivos, estas bacterias crecen en cadenas o pares los cuales son oxidasa y catalasa negativos entre los grupos que causan enfermedad a los humanos están los más frecuentes como el *Streptococcus pyogenes (*grupo A) produce amigdalitis e impétigo, el *Streptococcus pneumoniae* es causante de la mayoría de neumonías adquiridas en la comunidad, *Streptococcus viridans* y sus grupos es el causante de abscesos dentales, en dentro de sub genero está el *Streptococcus mutas* el principal agente que causa las caries dentales y sin olvidar que este causa endocarditis. Representa un patógeno común que puede inducir infecciones severas y potencialmente complicadas, con la posibilidad de generar secuelas graves. La identificación rápida, precisa y oportuna de este microorganismo es, por tanto, de suma importancia. En este contexto, se torna esencial evaluar las metodologías diagnósticas disponibles para determinar su eficacia relativa. En particular, se debe comparar el rendimiento del método manual con el del sistema automatizado Vitek 2 Compact, con el fin de evaluar la concordancia entre ambos enfoques en la identificación de *propues.* El objetivo de este estudio es evaluar la concordancia del diagnóstico de *Streptococcus* s*p* entre el método manual y el método automatizado en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora en el periodo julio y mayo 2023-2024. La metodología empleada para este estudio fue cuantitativo, no experimental, observacional, descriptivo con verificación de coincidencias en las pruebas diagnósticas para la identificación en 100 muestras de cultivo con crecimiento para *Streptococcus sp* en dos laboratorios, utilizando métodos convencionales y automatizados (Vitek 2 Compact). Para la obtención de resultados se realizaron pruebas para la diferenciación, obteniendo catalasa negativa 100%, alfa hemolisis 100%, bacitracina resistente 100%, optoquina resistente 94%. La identificación de los patógenos del género *Streptococcus sp.* se llevó a cabo utilizando dos métodos distintos: manual y automatizado. El método manual reveló las siguientes proporciones: 94% correspondieron a *Streptococcus* del grupo viridans, 6% a *Streptococcus pneumoniae*, y 0% a *Streptococcus pyogenes*. En contraste, el método automatizado proporcionó resultados con 89% de *S. viridans*, 6% de *S. pneumoniae* y 0% de *S. pyogenes*. Estos resultados evidencian una ligera discrepancia en la proporción de *S. viridans* identificada por ambos métodos, mientras que las

proporciones de *S. pneumoniae* y *S. pyogenes* se mantuvieron constantes entre los dos enfoques analíticos. La índice kappa indicó una concordancia de 1 (casi perfecta) para la identificación de *S. pneumoniae* y de 0.635 (considerable) para la identificación de *S. viridans*. Con base en estos hallazgos, se diseñó una propuesta para la mejora de habilidades diagnósticas conforme a los resultados obtenidos se concluyó la identificación del *Streptococcus sp* por el método manual en comparación con la metodología automatizada (Vitek 2 Compact), presenta una alta concordancia, especialmente con el *S. pneumoniae.* Se requiere revisar e implementar estrategias para mejorar la identificación de este patógeno en laboratorios como es la implementación del equipo automatizado puesto que tiene una mejor identificación en los sub géneros del grupo *viridans* los cuales son de interés clínico en el área odontológica.

DESCRIPTORES: *AUTOMATIZADO, DIAGNÓSTICO, VITEK 2 COMPACT, INFECCIONES, MANUAL, MÉTODOS, PATÓGENO, STREPTOCOCCUS.*

ABSTRACT

The genus *Streptococcus sp.* They are gram positive cocci; these bacteria grow in chains or pairs which are oxidase and catalase negative. Among the groups that cause disease in humans are the most frequent such as *Streptococcus pyogenes* (group A) produces tonsillitis and impetigo, *Streptococcus pneumoniae* is the cause. Of the majority of pneumonias acquired in the community, *Streptococcus viridans* and its groups are the cause of dental abscesses, within the subgenus is *Streptococcus mutas* the main agent that causes dental cavities and without forgetting that it causes endocarditis is a common pathogen that causes severe and potentially complicated infections with the possibility of generating serious sequelae, hence the importance of rapid, accurate and timely identification. In this context, it is essential to evaluate the available diagnostic methodologies to determine their relative effectiveness. In particular, the performance of the manual method should be compared with the Vitek 2 Compact automated system, in order to evaluate the concordance between both approaches in the identification of *Streptococcus sp.* The objective of this study is
To evaluate the agreement of the diagnosis of *Streptococcus sp.* between the manual method and the automated method in the Zamora Automated Clinical Laboratory in the period July and May 2023-2024. The methodology used for this study was
Quantitative, non-experimental, observational, descriptive study with verification of coincidences in diagnostic tests for the identification of 100 culture samples with growth for *Streptococcus sp*. in two laboratories, verification of coincidences in diagnostic tests for identification in 100 culture samples with growth for *Streptococcus sp.* in two laboratories, using conventional and automated methods (Vitek 2 Compact). To obtain results, tests were carried out to
Differentiation tests were performed, obtaining 100% negative catalase, 100% alpha hemolysis, 100% resistant bacitracin, 94% resistant optochin. The identification of pathogens of the genus *Streptococcus sp.* was carried out using two different methods: one manual and the other automated. The manual method, revealed the following proportions: 94% corresponded to *Streptococcus* of the *viridans* group, 6% to *S. pneumoniae*, and 0% to *S. pyogenes*. On the other hand, the automated method provide results with 89% of *S. viridans,* 6% of *S. pneumoniae* and 0% of *S. pyogenes*. These findings show a slight discrepancy in the proportion of *S. viridans* identified by both methods, while the identities of *S. pneumoniae* and *S. pyogenes* remained constant

between the two analytical approaches. The kappa index determined a concordance of 1 (almost perfect) according to the table between both methods for the identification of *S. pneumoniae* and 0.635 (considerable for identifying *S. viridans.* Based on these findings, a proposal was designed for the improvement of diagnostic skills according to the results obtained, the identification of the

Streptococcus sp. by the manual method compared to the automated methodology (Vitek 2 Compact), presents high concordance, especially with *S. pneumoniae*. Strategies must be reviewed and implemented to improve the identification of this pathogen in laboratories how is the implementation of the automated equipment since it has a better identification in the subgenera of the *viridans* group which are of clinical interest in the dental area

.

KEYWORDS: *AUTOMATED, DIAGNOSIS, VITEK 2 COMPACT, INFECTIONS, MANUAL, PATHOGEN, STREPTOCOCCUS.*

CAPITULO I
El PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

El 8 de diciembre de 2022, a nivel internacional cinco Estados Miembros de la Región Europea, específicamente, Francia, Irlanda, los Países Bajos, Suecia y el Reino Unido, notificaron a la Organización Mundial de la Salud (OMS) un incremento de infecciones por *Streptococcus sp*[(1)]. En América, se estimó la incidencia de la infección por este microorganismo en 358 casos por cada 100.000 personas. En 2015, el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) fue responsable de aproximadamente 5,700 muertes. Este patógeno oportunista coloniza la mucosa del tracto respiratorio superior, particularmente en la nasofaringe [(2).] La transmisión se produce de manera directa entre individuos a través de partículas respiratorias emitidas al toser o estornudar.

En Ecuador, el género *Streptococcus* sp., se encuentra comúnmente como parte del microbiota normal en las mucosas oral, respiratoria y gastrointestinal. Sin embargo, algunas especies de este género tienen relevancia clínica significativa debido a su capacidad para inducir diversas patologías de importancia sanitaria. Por ejemplo, *S. pneumoniae* es conocido por ser el agente etiológico de la neumonía, mientras que *S. pyogenes* es responsable de infecciones como la faringitis estreptocócica y la amigdalitis. Adicionalmente, *Streptococcus mitis*, que forma parte del grupo de *S.viridans*, rara vez está asociado con infecciones graves, pero en casos infrecuentes puede causar espondilodiscitis, estas especies pueden actuar como patógenos oportunistas, especialmente cuando existen alteraciones en las barreras naturales del organismo, llevando a complicaciones graves en la salud [(3)]. Los patógenos oportunistas, como *Streptococcus sp.*, pueden ingresar al torrente sanguíneo a través de lesiones en las mucosas, lo que puede llevar a sepsis y causar daños permanentes. Este estudio proporcionó información valiosa sobre la prevalencia del género *Streptococcus* en secreciones orofaríngeas.

En el laboratorio Clínico Zamora, no se han realizado estudios similares que permitan establecer la concordancia en la determinación de estas bacterias, representando un vacío de información importante que requiere solución, para que de esta forma los resultados de identificación y diagnóstico de la presencia del género y especie de *Streptococcus sp* sea 100% confiables.

La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante métodos convencionales, mientras que la susceptibilidad a los antimicrobianos se determinó utilizando la técnica tradicional de difusión en disco. Estas metodologías se han utilizado durante más de 70 años en laboratorios de microbiología, siendo los doctores Bauer, Kirby, Sherris y Turck los pioneros en su desarrollo, quienes en 1966 realizan un estudio exhaustivo de las variables involucradas en el proceso [(4)(5).]

Para la identificación manual, se utilizan muestras clínicas de exudados faríngeos, que se cultivan en agar sangre de oveja al 5%, incubando durante 24 a 48 horas a 35-37 ºC en condiciones anaeróbicas. Las colonias obtenidas presentan un color blanco-grisáceo y pueden mostrar hemólisis alfa, beta o gama [(6)]. Se aplican diversas pruebas de identificación para cada género y especie, incluyendo las pruebas de catalasa, tinción de Gram, bacitracina, optoquina y bilis esculina.

El sistema VITEK 2 Compact es un sistema automatizado con una sensibilidad del 98.5% que emplea tarjetas de identificación y reactivos colorimétricos para el diagnóstico. En este estudio, se utilizó un kit específico para la identificación de bacterias gram positivas. Las bacterias se inoculan con una suspensión de cultivo puro y se ajusta la turbidez al intervalo de 0.50 - 0.63 en la escala de McFarland. Posteriormente, la suspensión se coloca en el rack correspondiente junto con la tarjeta adecuada, permitiendo que el equipo escanee el código de barras y obtenga la información del fabricante. El proceso de identificación de los microorganismos tarda aproximadamente 4-5 horas para completarse.

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el índice kappa, que mide la concordancia entre dos métodos y se expresa en un valor decimal entre 0 y 1, donde 1 indica una concordancia perfecta. Este índice refleja la probabilidad de que el evento observado ocurra por encima del azar. En este estudio, se concluyó que existió una concordancia buena entre los métodos manual y automatizado para la identificación de bacterias Gram positivas (*Streptococcus sp.*) [(7), (8).]

Posteriormente, se desarrolló una propuesta para mejorar el porcentaje de concordancia entre los resultados obtenidos mediante el método manual y el automatizado

1.2. Justificación

Investigaciones realizadas destacan la importancia crítica de identificar el género y la especie de *Streptococcus sp.*, dado que esta bacteria es responsable de millones de muertes anuales a nivel mundial, especialmente en países con recursos limitados. *Streptococcus sp.* puede causar infecciones tanto supurativas como no supurativas, lo que lleva a secuelas inmunológicas graves, incluyendo neumonía, sepsis, fiebre reumática aguda y glomerulonefritis postestreptocócica [(9) (10).] La elevada frecuencia de infecciones causadas por *Streptococcus sp.* enfatiza la necesidad de una vigilancia rigurosa en la identificación de este patógeno para su efectiva prevención y control. Esto requiere la implementación de métodos diagnósticos precisos y eficientes, ya sean manuales o automatizados, para asegurar una detección oportuna y precisa del microorganismo en entornos de laboratorio.

El aspecto innovador de esta investigación radica en su relevancia social, dado que permite la identificación oportuna y precisa de *Streptococcus sp.* en una población vulnerable. Este avance contribuye significativamente al diagnóstico y tratamiento de infecciones asociadas, considerando que el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos es un proceso prolongado y costoso. La mejora en la capacidad de identificación rápida y exacta de estos patógenos puede optimizar las estrategias de manejo y tratamiento, mitigando el impacto en comunidades con recursos limitados.

La investigación es viable debido al interés y apoyo del personal del Laboratorio Clínico Automatizado Zamora, matriz Ambato, quienes facilitan la ejecución del estudio. De esta manera, los beneficiarios directos incluyen tanto a los pacientes como al personal de la institución, cuyas muestras serán analizadas en el laboratorio. Este estudio contribuirá de manera significativa a la resolución de los problemas asociados con las infecciones causadas por *Streptococcus sp.*

El diagnóstico se realizó en tres etapas primero se realizó por el método

convencional, como el aislamiento en medios de cultivo y pruebas de identificación, que pueden demorarse entre 24 y 72 horas, lo cual es un tiempo prolongado en comparación a la metodología automatizada [11] [12], segundo fue comparado la identificación de los microorganismos por el método tradicional frente al método automatizado (Vitek 2 Compact), tercero mediante el índice kappa se obtuvieron resultados con altos niveles de coincidencias que permitieron garantizar que son los correctos para el diagnóstico y establecer las ventajas entre uno y otro en base a la evidencia [13].

Esta investigación tiene mucha relevancia puesto que al no existir estudios similares en esta población es de gran ayuda a la comunidad, garantizando así un diagnóstico oportuno y confiable para la identificación del género *Streptococcus sp* descrito anteriormente.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General:

Evaluar la concordancia del diagnóstico de *Streptococcus sp* entre el método manual y el método automatizado en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora.

1.3.2. Objetivos específicos:

- Identificar la presencia de *Streptococcus sp* por el método manual y el método automatizado.
- Determinar las coincidencias del diagnóstico entre los dos métodos.
- Diseñar una propuesta para mejora de habilidades en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora.

CAPITULO II
MARCO TEÓRICO

2.1.ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Espadas y colaboradores [(1)], afirman que el *S. pyogenes* es el principal agente causal relacionado con el aumento de infecciones invasivas en los últimos años, patógeno con elevada prevalencia a nivel faríngeo, además, estos evaluaron la infección y complicaciones por *S. pyogenes* presente en el 92.7% de los cultivos positivos, registrando un incidencia de infecciones invasivas en 2,1/100.000 personas/año, las que incluyeron neumonía, algunos casos requirieron cuidados intensivos.

Binghuai [(4)] reporta una alta prevalencia de resistencia a los macrólidos y una caracterización molecular de *Streptococcus pyogenes* en circulación en China durante el período de 2009 a 2016. Se recolectaron un total de 140 aislados de *S. pyogenes* de pacientes infectados en 10 hospitales, que incluían 38 cepas invasivas y 102 cepas no invasivas. Todas las cepas fueron sometidas a caracterización mediante técnicas convencionales y moleculares. El análisis reveló una notable diversidad genotípica entre los aislados y una elevada prevalencia de resistencia a los macrólidos.

Villafañe y Castro (2015) [(5)] llevaron a cabo un estudio en la ciudad de Cartagena, en el cual evaluaron muestras de 131 individuos para detectar la presencia del antígeno del estreptococo β-hemolítico del grupo A. Las cepas de *Streptococcus pyogenes* fueron identificadas mediante métodos convencionales, y la sensibilidad a los antibióticos se determinó utilizando el método de Kirby-Bauer.
En un estudio realizado con pacientes que asistieron a un centro de salud en la República Dominicana, se estimó la incidencia de faringoamigdalitis aguda y se determinó la presencia del antígeno del estreptococo β-hemolítico del grupo A. Los resultados indicaron que el 19,8% de la población estudiada era portadora de la bacteria [(6)], sin descartar la posibilidad de coinfección con otros géneros

bacterianos oportunistas.

Soria y colaboradores en 2017, evaluaron 80 exudados faríngeos, estos se sometieron a una identificación con metodología convencional, además de pruebas serológicas de aglutinación de partículas de látex, método de difusión en agar *Muller Hinton* con 5 % de sangre de carnero. Se obtuvieron resultados positivos para bacterias en el 47.5 % de los casos, de las cuales el *estreptococo* beta-hemolítico predominó en con el 86.8 %. Esto demuestra la efectividad de las pruebas convencionales [(11)].

Según Sarah Arnup y colaboradores se investigó la precisión diagnóstica de las pruebas rápidas (RADT) para la faringitis por *S. pyogenes*. Se incluyeron un total de 48 estudios. Las estimaciones resumidas generales para la sensibilidad y la especificidad de las RADT fueron 0,86 (IC del 95 %: 0,83 a 0,88) y 0,96 (IC del 95 %: 0,94 a 0,97), respectivamente, y las estimaciones para los datos fueron similares. Concluyen los autores que las RADT se pueden usar para un diagnóstico preciso de la faringitis por *S. pyogenes* para agilizar el tratamiento del dolor de garganta en la atención primaria [(12)].

Banerjee y Ford [(14)] evaluaron la precisión de pruebas moleculares para el diagnóstico de infecciones por *Streptococcus pyogenes* del grupo A, encontrando que la sensibilidad de estas pruebas oscilaba entre el 82% y el 100%, mientras que los inmunoensayos mostraron sensibilidades entre el 55% y el 94%.En cuanto a la especificidad, los ensayos moleculares presentaron valores que varían del 91% al 99%, mientras que los inmunoensayos alcanzaron una especificidad del 81% al 100%.

En el estudio, se recogieron hisopados faríngeos de adultos y se examinaron seis ensayos de PCR, dos de los cuales, dirigidos a speB y spy1258, fueron optimizados como ensayos de PCR cuantitativa (qPCR). Estos ensayos de qPCR se compararon con métodos estándar basados en cultivos para evaluar su capacidad de detección de faringitis por *S. pyogenes*. Los aislamientos de *Streptococcus pyogenes* de hisopos con cultivo positivo fueron sometidos a tipificación emm. Se encontró que

el 18,9% de los cultivos fueron positivos para *S. pyogenes*. La qPCR dirigida a speB mostró una sensibilidad y especificidad del 100% en comparación con el cultivo de referencia, mientras que la qPCR dirigida a spy1258 presentó una sensibilidad del 87% y una especificidad del 100%. Los autores concluyen que la qPCR para speB demuestra una alta sensibilidad y especificidad, y puede ser una herramienta valiosa para el diagnóstico y la investigación de la faringitis por *S. pyogenes* [(15).]

Un estudio realizado en Francia permitió comparar la susceptibilidad antimicrobiana de *estreptococo* del grupo B determinada por el sistema Vitek 2 Compact métodos de difusión en agar y detección genotípica de genes de resistencia por PCR, empleando 110 aislamientos seleccionados de *Streptococcus sp.* Se evidenció una concordancia de categoría (CA) de 100% entre Vitek 2 Compact y el método de difusión. La concordancia entre lel equipo automatizado y la prueba de difusión DD para la detección de aislamientos constitutivos de MLS (B), inducibles por MLS (B) y de fenotipo M fue del 76 %, 36 % y 100 %, respectivamente [(16)].

En el estudio de López y colaboradores, se comparan métodos fenotípicos y espectrometría de masas (MALDI-TOF-MS Vitek), se seleccionaron 151 aislados clínicos de muestras respiratorias identificadas de forma rutinaria como *S. pneumoniae, Haemophilus influenzae y Moraxella catarrhalis*. Estas identificaciones se compararon con otros métodos fenotípicos y espectrometría de masas (MALDI-TOF-MS Vitek). Las discrepancias de los resultados se evaluaron mediante secuenciación del ARNr 16S. Treinta y ocho de las 43 cepas de *S. pneumoniae* (86%) fueron identificadas como tales mediante métodos fenotípicos y espectrometría. Concluyen los autores que los resultados obtenidos muestran que la automatización de los procesos proporciona una identificación de estas bacterias más rápida y fiable [(7)] .

En Estados Unidos, Rychert y colaboradores, evaluaron con Vitek 2 Compact en un subconjunto de 463 aislamientos que representan patógenos importantes que se

encuentran comúnmente, donde el 95% se identificaron con precisión a nivel de especie y no hubo identificaciones erróneas. Además, en todos los casos excepto uno, Vitek 2 Compact MS diferenció correctamente *S. pneumoniae* de otros *estreptococos* del grupo *viridans.* Los hallazgos demuestran que el sistema Vitek MS es muy preciso para la identificación de bacterias aeróbicas grampositivas en el laboratorio clínico [(8)].

Otro estudio diseñado para evaluar el rendimiento de Vitek 2 Compact para la identificación de cocos gram positivos se contó con un total de 424 aislamientos bien caracterizados, los resultados de Vitek 2 Compact se compararon con los de los métodos convencionales y la secuenciación del gen 16S rRNA. Para la identificación de aislamientos de cocos gram positivos, la tasa de concordancia general entre la identificación convencional y Vitek MS fue del 94,5 %. El sistema de espectrometría de masas y de desorción láser asistida por matriz Vitek MS (MALDI-TOF MS) puede ser un método confiable y rápido para la identificación de los cocos gram positivos más relevantes [(17).]

En el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, se verificó el desempeño Vitek 2 Compact, para ello analizaron 3,410 tarjetas de identificación, de las cuales 1,135 tarjetas eran para gram positivos con un tiempo promedio de identificación de 4.58 horas. Para la susceptibilidad a los antimicrobianos para gram positivos el tiempo promedio fue de 9.95 horas, 68.7% de las cepas identificadas tuvieron excelente rendimiento, 15.65% muy bueno, 3.72% bueno y 1.29% aceptable. Los autores concluyen que es posible ponderar estándares de calidad basados en los tiempos de identificación y susceptibilidad a antimicrobianos, además de los requerimientos adicionales para identificar género y especie en la población de nuestro hospital [(18)].

En Argentina se realizó la identificación de microorganismos inusuales y difíciles de diagnosticar. El sistema Vitek 2 Compact logró un mayor número de identificaciones correctas a nivel de especie entre los microorganismos gram positivos [(19)] .

En Alemania, se compararon dos métodos basados en espectrometría de masas y desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF-MS) para determinar su capacidad para identificar *S. viridans*. Todas las mediciones internas se realizaron utilizando un instrumento Autoflex II (Bruker Daltonics GmbH, Alemania). El otro sistema, un VITEK-MS (BioMérieux, Francia), se operó con la base de datos de conocimiento para uso clínico V2.0 disponible comercialmente. Se examinaron 184 muestras de aislados clínicos de la bacteria. Los resultados discrepantes se resolvieron mediante secuenciación de ADNr 16S. El método interno identificó correctamente 97% y 95% aislados a nivel de grupo y especie, respectivamente. En comparación, el sistema VITEK-MS identificó correctamente 79% aislados a nivel de grupo y especie. La diferencia entre los dos métodos fue estadísticamente significativa tanto a nivel de grupo como de especie. El uso del instrumento Autoflex II combinado con un método de extracción en lugar del análisis de células completas dio como resultado una identificación de *S. viridans* más confiable. Estos autores afirman que combinar la extracción con un potente software de análisis y la cuidadosa elección de cepas bien identificadas incluidas en la base de datos, es útil para identificar especies de *S. viridans* [(20)].

En China, un estudio identificó un total de 277 aislados de *Streptococcus* del grupo *viridans* (SGV) con los dos sistemas MALDI-TOF MS (VITEK MS y Bruker Biotyper). La secuenciación de los genes *tuf* y *rpoB* se utilizó como método de identificación de referencia para la comparación. Según la secuenciación de los genes *tuf* y *rpoB*, 84 aislados fueron *S. pneumoniae* y 193 cepas fueron otros aislados SGV. Los métodos VITEK MS y Bruker Biotyper identificaron con precisión el 94,6 % y el 89,9 % de todos los aislados de SGV respectivamente. VITEK MS mostró mejores resultados de identificación que Bruker Biotyper para algunos subgrupos específicos. Concluyen los autores que se demostró que dos sistemas MALDI-TOF MS permitieron la discriminación para la mayoría de los aislados de VGS con diferente rendimiento de identificación, pero Bruker Biotyper pudo producir más identificaciones erróneas en comparación con el sistema VITEK MS. Afirman por lo tanto que es fundamental estar

familiarizado con el rendimiento de los sistemas MALDI-TOF MS utilizados en microbiología clínica [21].

La información recopilada permite establecer la comparación entre el método convencional y el automatizado para la identificación del *Streptococcus sp*, cada uno con ventajas particulares, sin embargo, es importante establecer la concordancia entre ambos métodos.

Algunos estudios requieren evaluar la concordancia inter-observador, es decir, establecer las coincidencias entre los resultados de dos investigadores, para ello se cuenta con la herramienta estadística del Coeficiente de Kappa que se obtiene con "la proporción de concordancias observadas sobre el total de observaciones", sin tomar en cuenta las posibles concordancias atribuibles al azar. Los resultados obtenidos se describen con valores entre -1 y +1, la aproximación a +1 hace referencia a una mejor concordancia, por el contrario, la cercanía a -1 se interpreta como falta de coincidencias entre los observadores valores alrededor de 0 se debe al azar [22].

Los valores obtenidos con el Coeficiente Kappa se interpretan de forma cualitativa clasificando la concordancia de la siguiente manera: "pobre" (0,00), "leve" (0,01-0,20), "aceptable" (0,21-0,40), "moderada" (0,41-0,60), "considerable" (0.61, -0,80) y "casi perfecta" (0,81-1,00) [22].

Se realizó un estudio con la finalidad de identificar la concordancia entre los resultados del diagnóstico macroscópico y los resultados del histopatológico en pacientes con apendicitis aguda, para ello se implementaron la índice kappa de Cohen. En ese estudio se incluyeron 200 casos de pacientes operados de apendicitis aguda, evidenciando que los cirujanos diagnosticaron un 2.5 % de casos como patológicos siendo sanos, un 36.5% como apendicitis congestiva -catarral, un 8.5% como flemonosa-supurada, el 10 %gangrenosa-necrosada y 2.5% perforada. Al comparar con los resultados según el histopatológico el 5% se trató de casos de apéndices sin signos inflamatorios, 30,5% fueron apendicitis de tipo congestiva o

catarral, 53.5% flemonosa o supurada, un 5.5% gangrenosa o necrosada y 5.5 % perforada. Concluyen los autores que, de acuerdo con la índice kappa, en 0.180, la concordancia fue baja entre los resultados de los cirujanos y el estudio histopatológico [23].

2.2. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA

Las bacterias del género *Streptococcus sp* son los primeros colonizadores de la cavidad bucal, siendo adquiridas inmediatamente después del nacimiento. Estas bacterias desempeñan un papel crucial en la formación y estabilización del microbiota oral. Entre ellas, *S. pyogenes* (estreptococo del grupo A, EGA) se destaca como el principal agente etiológico de infecciones como la faringitis. En los últimos años, se ha registrado un aumento en la incidencia de infecciones invasivas causadas por *S. pyogenes*, lo que resalta la necesidad de una vigilancia y manejo clínico adecuados para controlar su impacto en la salud pública[1].

2.2.1. Streptococcus viridans

Los *estreptococos* del grupo viridans (EGV) son un conjunto heterogéneo de bacterias saprófitas anaerobias facultativas y microaerofílicas que integran la flora normal de la cavidad oral. Estas bacterias son responsables de una variedad de infecciones orofaciales, incluyendo caries dentales, pulpitis, abscesos dentales, gingivitis, periodontitis y pericoronaritis. Estas condiciones representan una de las principales causas de enfermedades infecciosas a nivel global, no solo por su alta incidencia, sino también por su potencial gravedad y las complicaciones que pueden derivarse de ellas. Además, se ha observado un aumento significativo en la prevalencia de resistencia a múltiples antimicrobianos entre las cepas de EGV [22].

Los *estreptococos* orales, poseen características comunes por tratarse de cocos gram positivos, son anaerobios facultativos, están asociados en parejas o cadenas, no producen catalasa y fermentan la glucosa con producción de ácido láctico. El término "*viridans*" proviene del latín *viridis*, que significa "verde". Este nombre se refiere a la

capacidad de estas bacterias para formar colonias pequeñas en agar sangre, rodeadas por un halo verdoso. Este halo es el resultado de la reducción de la hemoglobina en los eritrocitos, un proceso que caracteriza la hemólisis parcial (hemólisis alfa) [23].

A pesar de considerarse patógenos de poca virulencia, son agentes etiológicos de diversos procesos infecciosos de gran repercusión sanitaria como la endocarditis infecciosa y pueden producir infecciones en individuos con válvulas cardíacas alteradas o complicar a pacientes con cáncer y neutropenia, con alta tasa de mortalidad. La endocarditis de etiología estreptocócica se ubica entre el 40% y el 60% de todos los casos. En los últimos años la frecuencia de la endocarditis por SGV parece haber disminuido, aunque todavía representa entre el 30% y el 40% del total [24].

2.2.2. Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae, conocido comúnmente como neumococo, es un diplococo Gram positivo que recibe su nombre debido a su capacidad para causar neumonía, particularmente en la población de adultos mayores. Este microorganismo está rodeado por una cápsula de polisacáridos que juega un papel crucial en su virulencia al protegerlo de la fagocitosis. La cápsula constituye el principal factor de virulencia del neumococo. La virulencia también está influenciada por el serotipo del neumococo, la composición química de la cápsula y el tamaño del polisacárido capsular, factores que son fundamentales para el desarrollo de las vacunas antineumocócicas. Basado en las variaciones antigénicas de la cápsula, se han identificado más de 100 serotipos de *S. pneumoniae*, de los cuales al menos 10 son responsables de la Enfermedad Neumocócica Invasora (ENI) [25].

S. pneumoniae es capaz de inducir una amplia variedad de enfermedades, que pueden presentarse de forma localizada o mediante extensión directa a estructuras adyacentes a partir de la nasofaringe. Además, el microorganismo puede causar infecciones a través de la invasión vascular y diseminación hematógena. Por lo tanto, S. pneumoniae puede manifestarse clínicamente en un rango que va desde infecciones respiratorias leves hasta enfermedades graves como neumonía severa o enfermedad neumocócica invasora (EI) [26].

La enfermedad invasora por neumococo (ENI) se define como la invasión del agente bacteriano en sitios estériles como por ejemplo desde circulación sanguínea que se disemina a otros órganos o alcanza de forma directa el líquido cefalorraquídeo, causando: bacteriemia, meningitis, empiema, endocarditis, artritis. *S. pneumoniae* es la causa más frecuente de neumonía adquirida en la comunidad (NAC), meningitis bacteriana en adultos mayores, otitis media, así como una importante causa de sinusitis, artritis séptica, osteomielitis, peritonitis y endocarditis [27].

2.2.3. Streptococcus pyogenes

Streptococcus pyogenes, conocido como estreptococo del grupo A, es una bacteria Gram positiva que puede colonizar la garganta y la piel de los seres humanos. Esta especie es responsable de una variedad de infecciones, incluyendo faringitis estreptocócica y diversas infecciones dérmicas, y está implicada en más de 500,000 muertes anualmente a nivel mundial. La transmisión ocurre principalmente a través del contacto directo con individuos infectados, mediante gotas respiratorias expelidas al toser o estornudar, o a través del contacto con heridas infectadas. Las infecciones provocadas por *S. pyogenes* pueden variar desde enfermedades leves como amigdalitis, faringitis, impétigo, celulitis y escarlatina, hasta condiciones más graves. La mayoría de estas infecciones pueden ser eficazmente tratadas con antibióticos, y una persona con una infección leve deja de ser contagiosa después de 24 horas de tratamiento adecuado. *S. pyogenes* es una causa frecuente de faringitis bacteriana en regiones donde los cambios bruscos de clima son comunes [28].

Las principales enfermedades potencialmente graves detectadas han sido: neumonía, fascitis necrotizante, sepsis y *shock* séptico fulminante. En consecuencia, se ha registrado un incremento de la mortalidad, debido a este patógeno. Por ejemplo, la epiglotitis aguda es la inflamación de la epiglotis y sus estructuras adyacentes, que provoca la obstrucción brusca de la vía aérea superior, determinando una emergencia respiratoria. Se han descrito casos ocasionados por

otros patógenos emergentes, como otros tipos de *H. influenzae, S. aureus, S. pneumoniae* y *pyogenes*, así como algunos virus y hongos que pueden actuar como oportunistas [29].

La incidencia de infecciones invasivas por *S. pyogenes* varía tanto según la región geográfica como a lo largo del tiempo en países desarrollados y en desarrollo. En la mayoría de los países desarrollados, la incidencia oscila entre 2 y 4 casos por 100.000 habitantes. En contraste, en países de América Latina, como Argentina, se han reportado tasas de incidencia de 4,97 casos por cada 10.000 egresos hospitalarios, con una tasa de letalidad global del 7,6%. Un estudio llevado a cabo en Argentina por Lopardo y colaboradores, cuyo objetivo fue evaluar las infecciones invasivas por estreptococos beta-hemolíticos de los grupos A, C y G en múltiples centros del país, reveló una incidencia de 4,6 casos por cada 10.000 individuos, con una tasa de letalidad asociada que varía entre el 10% y el 20% en adultos. Las formas clínicas más graves, como la fascitis necrosante, presentan la mayor mortalidad. Aunque la incidencia de estas infecciones es baja, la alta mortalidad asociada a sus formas graves provoca una considerable visibilidad y alarma pública ante la aparición de casos, generando gran preocupación en el personal de salud y demandando una estricta vigilancia epidemiológica. Es crucial profundizar en el conocimiento de estas infecciones mediante la caracterización de las poblaciones afectadas, las cepas circulantes y la correcta identificación de los patógenos involucrados [30].

2.2.4. IDENTIFICACIÓN DE MICRORGANISMOS POR MÉTODO MANUAL

La coloración de Gram permite que, tanto las bacterias patógenas oportunistas y las que forman parte de la flora normal, puedan teñirse y observarse. Es importante tener en cuenta el sitio anatómico de donde provienen las muestras clínicas y su adecuada recolección para que la tinción de Gram pueda ser de utilidad para el diagnóstico definitivo de las infecciones bacterianas. La observación de esta

tinción permite encontrar características como: cocos, bacilos, cocobacilos, diplococos y espirilos; así como agrupación en parejas, racimos y empalizados, además de poder describir el tamaño de las células bacterianas a partir de muestras clínicas y de cultivos bacterianos. Las bacterias gram positivas se tiñen de color azul oscuro o violeta y el colorante queda atrapado en la capa de peptidoglucano.[31].

La siembra de muestras clínicas en medios de cultivos, propicia el crecimiento y multiplicación de las bacterias, permitiendo su detección, aunque el número inicial fuera muy bajo y, por tanto, no hubieran podido ser observadas en el examen microscópico. Además, el aislamiento de las bacterias por cultivo permite su posterior identificación y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Los medios de cultivo son una mezcla de nutrientes que en concentraciones adecuadas y en condiciones óptimas, permiten el crecimiento, multiplicación, aislamiento e identificación de las bacterias. Los medios enriquecidos son medios usuales a los que se les añade suero, sangre, o factores esenciales específicos como vitaminas o cofactores, y que permiten el crecimiento de las bacterias exigentes en requerimientos nutritivos [31].

El cultivo es la técnica de diagnóstico de referencia, presentando una sensibilidad del 90- 95% y su especificidad puede llegar hacer 99%. La muestra que se necesita es el exudado faríngeo, debe ser tomada lo antes posible con la aparición de síntomas y sin haber iniciado ninguna terapia con antibióticos, esta se obtiene de las dos amígdalas y la faringe posterior mediante el uso de hisopos, se puede conservar en un medio Stuart durante 24 horas, sin embargo, la muestra debe ser procesada lo más rápido en el laboratorio [32].

La identificación de *S. pyogenes*, se puede realizar por 3 métodos: Cultivo, con una duración para la obtención de los resultados entre 48 a 72 horas; Test Rápido de Detección de Antígeno (TDRA), que detecta el antígeno carbohidrato específico de la pared celular del grupo A con reporte de resultados en 10 minutos y el método automatizado con duración de 24 a 48 horas [32].

El cultivo manual es el *Gold standard* para el diagnóstico del cualquier microorganismo, pero la obtención de un resultado requiere un mínimo de 48 a 72 horas.[33] este es el método más utilizado y el que se ha realizado desde hace mucho tiempo siendo el más confiable.

Para la identificación de *Streptococcu sp* se utiliza agar sangre preferiblemente enriquecido con sangre de cordero al 5%, la placa ya inoculada, se incuba en una cámara para anaerobios de 35 a 37° C durante 24 horas. En caso de no presentar crecimiento se incubará hasta 48 horas. Las colonias de *Streptococcus sp* son blancas o grises, pueden estar rodeadas de beta, gama, alfa hemólisis, y no son productoras de catalasa. Una de las pruebas a realizar es la Bacitracina (disco de 10 ug) y si se produce cualquier halo de inhibición se dice que es positiva, característica sólo del *estreptococo* β hemolítico del grupo A [34].

Otra prueba para identificación es la optoquina (disco de 5 ug) es una sustancia química, de clorhidrato de etilhidrocupreína. Esta concentración es óptima para diferenciar *S. pneumoniae* (sensibles con un halo mayor o igual a 14) de otras especies de *estreptococos* alfa hemolíticos, *S. viridans* es resistente a la optoquina. Las células de *S. pneumoniae* se lisan debido a los cambios en la tensión superficial y se produce una zona de inhibición por el contacto con este antibiotico [31]. Sin embargo, otra prueba de identificación es el Agar bilis esculina es un medio selectivo y diferencial que se usa para aislar e identificar un gran número de miembros del género *Enterococcus,* y también *estreptococo* del grupo D al dar positivo para estos microorganismos cambia a color negro.

2.2.5. IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS ORALES POR MÉTODO AUTOMATIZADO

La identificación de *S. pyogenes*, *pneumoniae y viridans* con sus especies se puede realizar por técnicas moleculares o sistemas automatizados como Vitek 2 Compact que detecta fragmentos de ácidos nucleicos. Este tiene un sistema totalmente automatizado tiene una amplia gama de identificación, las tarjetas son

cerradas lo cual evita la contaminación utiliza códigos de barra para ofrecer trazabilidad, los resultados son 2-8 horas la gran mayoría de las gram positivas, con la capacidad de 60 tarjetas tiene 93,9% exactitud de resultados de identificación combinados y 94% precisión de IDs de elección única incluyendo cepas complejas [32] toto esto se trabaja con el aislamiento de colonias puras obtenidas de las diferentes muestras.

Las muestras se siembran en medio selectivo Agar mitis, salivarius y Agar chocolate base tripticasa soya, Agar sangre se seleccionan las colonias con las características morfológicas y tintoriales del género *Streptococcus sp.*

Otras técnicas de identificación bioquímica como Api 20 Strep (Biomerieux), se utilizan para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y confirmar el fenotipo de *estreptococo* del grupo *viridans* aislado. Las cepas que por la técnica API 20 resultaron positivas, son confirmadas por método de dilución en caldo por el sistema *Microscan System* siguiendo las instrucciones de la casa comercial *Becton Dickison*, la cual identifica el fenotipo mediante un panel de 27 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica que contiene como pruebas: cristal violeta, Micrococcus screen, nitritos, novobiacina, PGR, β-d glucoronidasa, indol fosfatasa, voges proskawer, optoquina, fosfatasa, bilis esculina, pirridolina, arginina, galactosidasa, urea, manitol, lactosa, trehalosa, mannosa, cloruro de sodio, sorbitol, arabinosa, ribosa, inulina, raffinosa, bacitracina, piruvato [22].

Daza [32], afirma que se puede realizar el Test de detección rápida de antígenos estreptocócicos (RADT) inmunocromatografía e inmunoanálisis óptica, los cuales poseen una mejor especificidad (92,8-100%) y la sensibilidad hasta un 96%. Permiten tener resultados más rápidos, gracias su alta especificidad, si la prueba es positiva, se diagnóstica una faringoamigdalitis por *S. pyogenes*.

2.2.6. COINCIDENCIAS POR EL MÉTODO KAPPA FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Los estudios de concordancia se utilizan para verificar las coincidencias de las medidas obtenidas por el método cuya calidad se desea valorar con las obtenidas por otro método. En estos casos se estaría evaluando la concordancia entre métodos de medida con el objetivo de determinar si los resultados de los dos métodos son intercambiables, de forma que sea indiferente utilizar uno u otro [37].

Para determinar el grado de concordancia inter-observador, es decir, hasta qué punto ambos coinciden en su medición, se dispone de una herramienta estadística frecuentemente utilizada, el coeficiente kappa (k). Independientemente del diseño de investigación, la validez de un estudio puede verse severamente afectada si se utilizan mediciones poco fiables. Una importante fuente de error de medición es producto de la variabilidad inter-observador, cuya magnitud es posible de estimar a través de los llamados estudios de concordancia, los cuales tienen como objetivo estimar hasta qué punto dos observadores coinciden en su medición. Estadísticamente, la manera de abordar este problema depende de la naturaleza de los datos. Cuando éstos son de tipo categórico, el test más frecuentemente empleado es el test de kappa que refleja la fuerza de la concordancia entre dos observadores. Este puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de k = 0 refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar [38].

2.2.7. HABILIDADES EN EL LABORATORIO

Los constantes avances de la ciencia y la tecnología en nuestra sociedad actual impulsan la necesidad de la formación por competencias en todos los niveles, y los laboratorios de microbiología no están exceptuados, es por ello que se requiere una tecnología para aproximarse y comprender la demanda que exige en nuestro campo

laboral. Es importante tomar en cuenta que existe un desarrollo constante de la tecnología y del manejo del conocimiento que pueden limitar la calidad de resultados en centros diagnósticos [39]. Se requiere:

- Capacidad de interpretación del método científico.
- Destreza en el uso de equipos y materiales de laboratorio acorde al avance tecnológico.
- Iniciativa personal en la búsqueda de soluciones.
- Interés por actualizarse en el área científica y tecnológica.
- Búsqueda de la calidad y excelencia en las tareas y análisis ejecutados.
- Interés por el manejo de información.
- Orden y limpieza.

CAPÍTULO III
MARCO METODOLÓGICO

3.1.Tipo de investigación

El presente estudio se realizó en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora, ubicado en la parte céntrica del Cantón Ambato, provincia de Tungurahua, en la calle Luis Martínez, entre calles Bolívar y Rocafuerte. Se contó también con el uso del Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos UTA-LABB de la Universidad Técnica de Ambato, ubicado en las avenidas México y El Salvador donde las muestras fueron analizadas mediante el quipo automatizado Vitek 2 Compact. (Anexo B).

El enfoque de esta investigación es tanto cuantitativo como cualitativo. La dimensión cuantitativa se manifiesta en el registro y análisis estadístico de los resultados obtenidos mediante el método convencional de identificación, que se comparan con los resultados del método automatizado. Por otro lado, la dimensión cualitativa se basa en la revisión de referencias bibliográficas y estudios previos relacionados con el tema. El diseño del estudio es no experimental, dado que no se manipuló la variable independiente. Se empleó un diseño transversal para analizar los datos recopilados en un período específico de tiempo. Se realizó una evaluación de pruebas diagnósticas para la identificación de *Streptococcus sp*. en dos laboratorios distintos, registrando los datos obtenidos con ambos métodos establecidos en esta investigación.

3.2. Población y muestra

Se consideró como población de estudio a todas las muestras de los cultivos con crecimiento de *Streptococccocus sp*, realizadas en el laboratorio Clínico Automatizado Zamora para la identificación bacteriana. Se incluyeron en el estudio a todas las pruebas realizadas en el periodo comprendido entre julio y mayo 2023-2024, tipo cultivos con crecimiento de *Streptococcus sp,* con hemolisis alfa,

beta, gama hemolisis, excluyendo todos los cultivos de crecimiento de *Staphylococcus,* gram negativos, *Enterococos* y pacientes que no firmaron el consentimiento informado o que no cumplían con las indicaciones señaladas antes de la muestra como:

No cepillarse los dientes
No estar utilizado ningún antibiótico
No usar enjuague bucal
No ingerir ningún alimento antes de la toma
Tener síntomas de faringitis (fiebre, tos, amígdalas inflamadas)

En periodos similares se estima una cantidad de pruebas aproximadas de 100, por lo tanto, no se realizará cálculo de muestra y se incluyeron 100 pruebas en el estudio.

3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

3.2.1.1. Criterios de inclusión

- Se incluyeron en el estudio a todas las pruebas realizadas en el periodo comprendido entre julio 2023 y julio 2024, que sean cultivos con crecimiento de *Streptococcus sp*.
- Se usaron todos los cultivos que presentaron una beta, gama, alfa hemolisis, procedentes de todos los pacientes que firmaron el consentimiento informado y que cumplían con todas las indicaciones requeridas.
- Se aceptaron todos los pacientes que sean mayor de edad, y sin discapacidad.
- Que hayan manifestados síntomas de faringitis.

3.2.1.2. Criterios de exclusión

- Se excluyeron todos los cultivos de crecimiento gram positivo que eran *Staphylococcus*, y Gram negativos.

- Pacientes menores de edad no se tomó en cuenta para el estudio
- Se rechazaron los cultivos que resultaron positivos para *Enterococcus.*
- Pacientes que no firman el consentimiento informado.

3.3. Prueba de Hipótesis:

La identificación por el método convencional del *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada presenta una alta concordancia.

3.4. Recolección de información

Las muestras de secreción orofaríngea se recolectaron de pacientes que acuden al laboratorio por exámenes solicitado por el médico, la selección de pacientes se realizó aplicando criterios de exclusión e inclusión antes descritos. Una vez las muestras fueron seleccionadas se rotuló cada una de ellas con el nombre, edad y sexo de los pacientes que emite el sistema de reporte de laboratorio. Luego se procedió a realizar la toma de la muestra y realización de la placa para la tinción gram para identificar la presencia de cocos gram positivos en las muestras y luego se procedió a la etapa de aislamiento de *Streptococcus sp*.

3.4.1. RECURSOS MATERIALES

3.4.1.1. Equipos:

- Estufa marca Geyer, modelo ED71P
- Estufa marca Geyer, Modelo ED71P
- XDensitómetro
- Cámara de bioseguridad tipo II, Marca migali, sello de calidad INEN- NTE INEN 2067.
- Microscopio - Biobase

3.4.1.2. Materiales:

- Agar sangre - HIMEDIA
- Cristal violeta - QCA
- Yodo Gram - QCA
- Alcohol cetona - QCA
- Safranina - QACA
- Disco de bacitracina 10ug - BIOANALYSE

- Disco optoquina,5 ug - BIOANALYSE
- Guantes - MASTERGUARD
- Equipo de protección - DHISVE
- Agua oxigenada - PRIMS
- Medios de Stuart - CITOSWAB
- Baja lenguas - CARICIA
- Hojas para registro, marcador
- Prueba Gram positivas
- Solución salina 0.45
- Cepas ATCC para Gram positivas.
- Cámara para anaerobios
- Regla para medir sensibilidad bacteriana
- Pipetas automáticas.
- Puntas nuevas
- Hisopos estériles

3.4.2. RECURSOS HUMANOS:

Profesionales que laboran en el Laboratorio Clínico Automatizado Zamora y en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Ambato, la investigadora y el director del proyecto de desarrollo.

3.4.3. RECOPILACIÓN DE DATOS

Los datos fueron obtenidos de muestras adquiridas con cepas de cultivos de *Streptococcus sp*, las cuales se analizaron con ambos métodos, convencional y automatizado. Los resultados de la identificación se recopilaron en una matriz de información (anexo 8, 9, 10, 11) diseñada para los efectos de la investigación.

3.4.4. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Para la recolección de la muestra, se obtuvo el consentimiento informado, el cual especificó los detalles del estudio y subrayó la naturaleza voluntaria de la participación. Una vez obtenido el consentimiento y explicado el procedimiento al paciente, se procedió a la toma de la muestra de la zona orofaríngea utilizando un hisopo de dacrón y un depresor lingual. La muestra se transportó en un medio de transporte Stuart y se preparó una placa para la tinción de Gram.

SIEMBRA DE LA MUESTRA

Una vez obtenida la muestra en el medio de transporte Stuart, se codificó la caja con el identificador del paciente. Se procedió a la siembra del contenido en un medio de cultivo agar sangre utilizando el método de siembra por agotamiento en tres direcciones. La placa se incubó en una cámara para anaerobios a 37 °C durante 24 a 48 horas.

3.4.4.1. Identificación del microorganismo

Tras la toma de la muestra, se preparó una placa para la coloración de Gram para evaluar la presencia de cocos, que pueden aparecer en cadenas o en racimos, y para identificar cocos Gram positivos, Gram negativos y levaduras. Después del período de incubación, se realizó la prueba de la catalasa, que es negativa para *Streptococcus* spp. y positiva para *Staphylococcus* spp. Los cultivos que mostraron crecimiento compatible con *Streptococcus* spp. fueron incluidos en el estudio, mientras aquellos que presentaron otros tipos de crecimiento fueron excluidos, como sucedió en el caso de la diferenciación de los *Enterococcus* de *Streptococcus sp* utilizando el agar de bilis esculina.

En las colonias que se desarrollaron en agar sangre con características referentes a *Streptococcus sp* se visualizó la presencia de beta, gama, alfa hemólisis para clasificarlas según Lancefield, posteriormente se procedió a realizar las pruebas de sensibilidad con Bacitracina y Optoquina dejando incubar 24 hs en la estufa a (35 - 37 ºC), pasado este tiempo se midieron los halos de inhibición para poder determinar su sensibilidad o resistencia, una vez identificadas las especies de *Streptococccus sp* por el método manual se compararon con el método automatizado para discernir su concordancia.

3.4.4.2. Identificación automatizada mediante Vitek 2 compact

Se procedió a la identificación de los microorganismos mediante el equipo automatizado Vitek 2 Compact. Este sistema emplea tarjetas con reactivos

colorimétricos específicas, que se inoculan con una suspensión de cultivo puro. El perfil de desarrollo de los cultivos es interpretado automáticamente por el sistema. Las tarjetas están selladas en ambos lados con una película transparente que previene el contacto entre las mezclas de sustrato y microorganismo, al mismo tiempo que permite la transmisión adecuada del oxígeno. Para la identificación de los cultivos, se utilizaron las tarjetas GP, diseñadas para la detección de cocos Gram positivos, que son relevantes para el estudio de *S. viridans*, *S. pneumoniae*, y *S. pyogenes*.

Cumpliendo con los requerimientos de limpieza y control de bioseguridad, se realizó el procedimiento en una cámara de flujo laminar. A partir de un cultivo puro en agar sangre incubado durante 24 a 48 horas, se transfirió una cantidad del inóculo a un tubo de ensayo que contenía 3 mL de solución salina estéril utilizando un asa estéril. La turbidez de la suspensión se ajustó a 0.50-0.63 unidades en la escala de McFarland. A continuación, se insertó la tarjeta de identificación en el tubo de transferencia con la suspensión ajustada, y se llevó al equipo Vitek 2 Compact para su procesamiento. Esto incluyó el corte del tubo de transferencia, la codificación del paciente en el equipo y el análisis automático. Todas las tarjetas fueron incubadas a 35.5 ± 1.0°C durante 4 a 5 horas para la obtención de los resultados.

Las muestras fueron analizadas por la investigadora principal, quien estuvo a cargo de la responsabilidad de la manipulación y resguardo de las mismas. Los participantes tendrán acceso a sus resultados, sin embargo, al finalizar la investigación, la tesis quedará al resguardo del repositorio de la universidad y de ser posible, los resultados podrán ser publicados en una revista científica para socializarlos y que estén al alcance de la comunidad científica.

Respecto a la seguridad del paciente, los datos de este estudio fueron obtenidos de muestras de exudados faríngeos de pacientes sintomáticos, cuyos datos de identificación fueron anonimizados y sustituidos por códigos manejados únicamente por la investigadora. Con ello se garantiza la confidencialidad de la identificación de los pacientes, evitando la vulnerabilidad de sus derechos.

El proceso de anonimización de las muestras biológicas inició con la codificación de las mismas con un código único emitido por el sistema de laboratorio.

La persona responsable de la custodia de las muestras biológicas humanas es la investigadora principal, la cual se compromete a la manipulación y resguardo adecuado de los datos de los pacientes mientras se realice la investigación para su posterior descarte de acuerdo con las normas, cuando sea pertinente.

Los pacientes tuvieron un riesgo o peligro mínimo puesto que la toma de la muestra es un procedimiento no invasivo e inocuo, el cual fue realizado por una profesional con experiencia.

3.5. Procesamiento de la información y análisis estadístico

Una vez obtenido los resultados en ambos laboratorios para la identificación de *Streptococcus sp*, los datos se recopilaron y organizaron en una hoja de cálculo de Excel, para luego procesarlos con el paquete estadístico IBM SPSS- V25.

Los datos cualitativos se analizaron con frecuencias y porcentajes, los datos cuantitativos se analizaron con medidas de dispersión y tendencia central, para su comparación, se realizó el cálculo de porcentaje de concordancia de cada método.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Para alcanzar el objetivo establecido en la presente investigación, que consiste en evaluar la concordancia entre el diagnóstico de *Streptococcus* spp. utilizando el método manual y el método automatizado, se procedió de la siguiente manera: Se recopiló y analizó la información obtenida a partir de las muestras orofaríngeas. Estas muestras fueron evaluadas mediante ambos métodos de diagnóstico. Posteriormente, los datos resultantes fueron registrados en una matriz de información, la cual reveló los siguientes resultados:

Tabla 1. Resultados de la tinción Gram de las muestras de secreción faríngea. Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Número de muestras	**Gram (+)**	**Gram (-)**	**Disposición**	
				Cadenas	**Racimo de uvas**
Cocos	121	121	0	108	13
Bacilos	6	0	6	-	-
Otros	2	0	0	-	-
TOTAL	**129 (100%)**	**121 (94.5%)**	**6 (4.5%)**	**108**	**13**

Elaborado por: Investigadora

Interpretación: Se obtuvo un total de 129 muestras de secreción orofaríngea, de las cuales el 94.5% (n = 121) resultaron ser Gram positivas, el 4.5% (n = 6) Gram negativas, y el 1% (n = 2) restantes no clasificaron claramente en ninguna de estas categorías. Entre las bacterias Gram positivas, se observó que la mayoría presentaba una disposición en cadena, con una frecuencia del 89.2% (n = 108), mientras que el 10.8% (n = 13) mostró una disposición en racimo (ver Tabla 1).

Tabla 2. Resultados de la prueba catalasa para diferenciar *Streptococcus sp*. de *Staphylococcus spp.* Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Prueba rápida de la Catalasa
Número de muestras	121
Especie identificada	108 S*treptococcus sp* (Catalasa -) 89.2% 13 *Staphylococcus sp*. (Catalasa +) 10.8%

Elaborado por: Investigadora

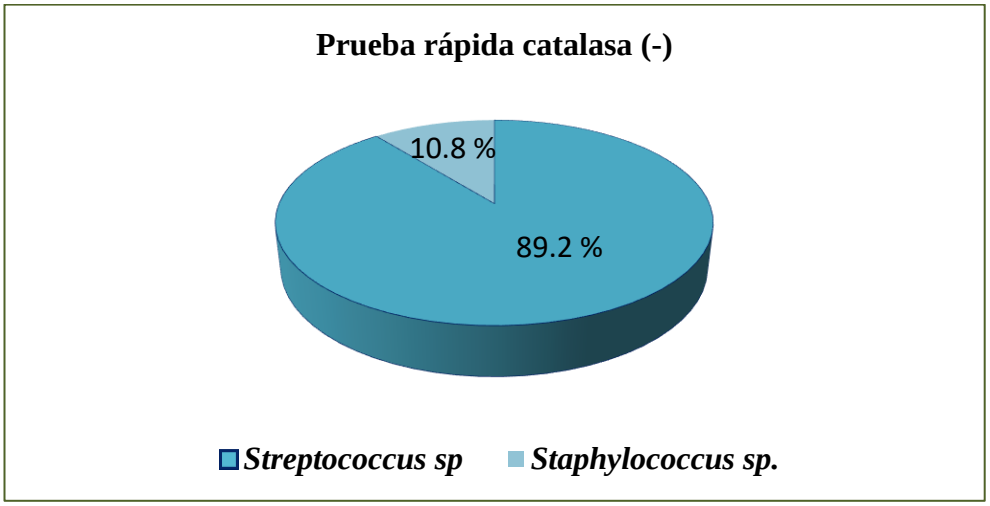


Figura 1. *Prueba rápida de catalasa para identificar Streptococcus sp. Laboratorio Clíinico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: En la prueba rápida para catalasa, las colonias analizadas arrojaron los siguientes resultados: 108 colonias fueron identificadas como *Streptococcus spp.* (Catalasa -), lo que representa el 89.2%, mientras que 13 colonias correspondieron a *Staphylococcus* spp. (Catalasa +), constituyendo el 10.8% de las muestras analizadas (ver Tabla 2, Figura 1).

Tabla 3. Resultados de la siembra en agar sangre para identificar la hemólisis de *Streptococcus sp.* Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Hemólisis en agar sangre		
	Alfa	**beta**	**gamma**
Número de muestras	100 (92.6%)	0	8 (7.4%)
Especie posiblemente identificada	*S.Viridas* y *Pneumoniae*	*S. pyogenes*	*Enterococcus*

Elaborado por: Investigadora

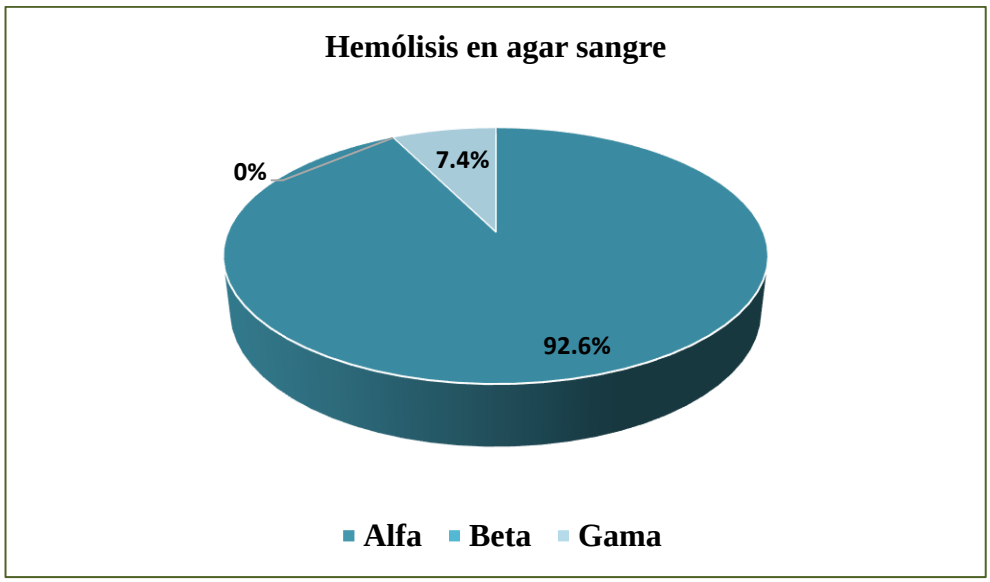


Figura 2. *Resultados de la identificación manual. Laboratorio Clínico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: En la prueba de agar sangre para la determinación de la hemólisis, los resultados reflejaron que: de las 108 muestras, el 92.6 % (n= 100) presentaron un halo verde alrededor de la colonia, es decir una alfa hemólisis presuntivamente aislando *S.viridans y S.Pneumoniae.* al no existir hemólisis fueron gamma con el 7.4 % (n= 8), y un 0% para una beta hemólisis. (Tabla 3, figura 2).

Tabla 4. Resultados de la prueba Bilis Esculina para identificar *Enterococcus sp.* de *Streptococcus sp.* Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Prueba de Bilis Esculina	
	Bilis esculina (+)	**Bilis esculina (-)**
Número de muestras	8 (7.4%)	100 (92.5%)
Presunta especie identificada	*Enterococcus Streptococcus grupo D*	*S.Viridas Pyogenes Pneumoniae*

Elaborado por: Investigadora

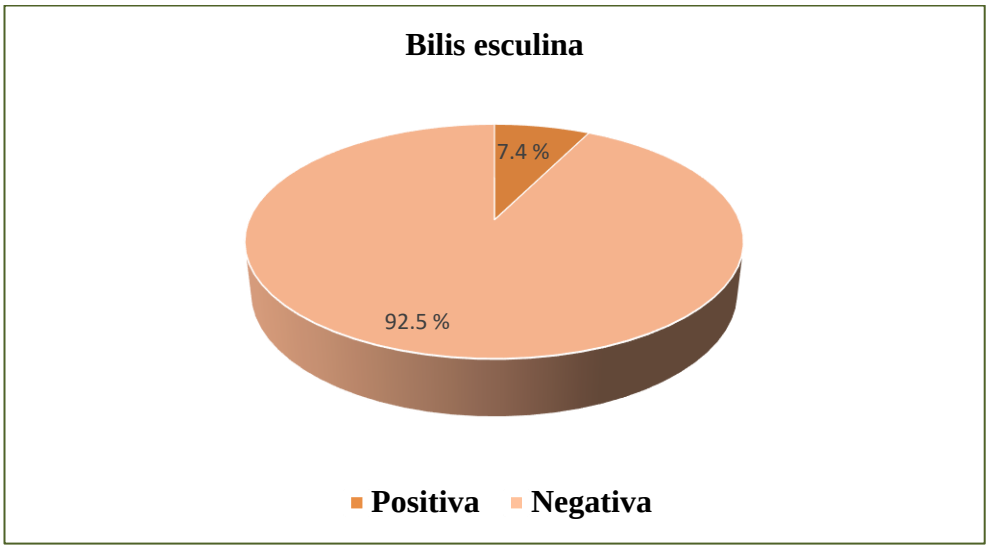


Figura 3. *Prueba Bilis Esculina para diferenciar Enterococcus sp. de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: En la prueba de bilis esculina para diferenciar *Enterococcus sp. de Streptococcus sp*, los resultados reflejaron: 92.5 % (n= 100) para el género *Streptococcus sp* y un 7.4 % (n= 8) *para* el género *Enterococcus sp*. (Tabla 4, figura 3).

Tabla 5. Resultados de difusión de disco con bacitracina para identificación de las especies de S*treptococcus sp.* Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Pruebas de Bacitracina	
	Bacitracina (+)	**Bacitracina (-)**
Número de muestras	0	100 (100%)
Especie identificada	*Pyogenes*	*Viridans Pneumoniae*

Elaborado por: Investigadora

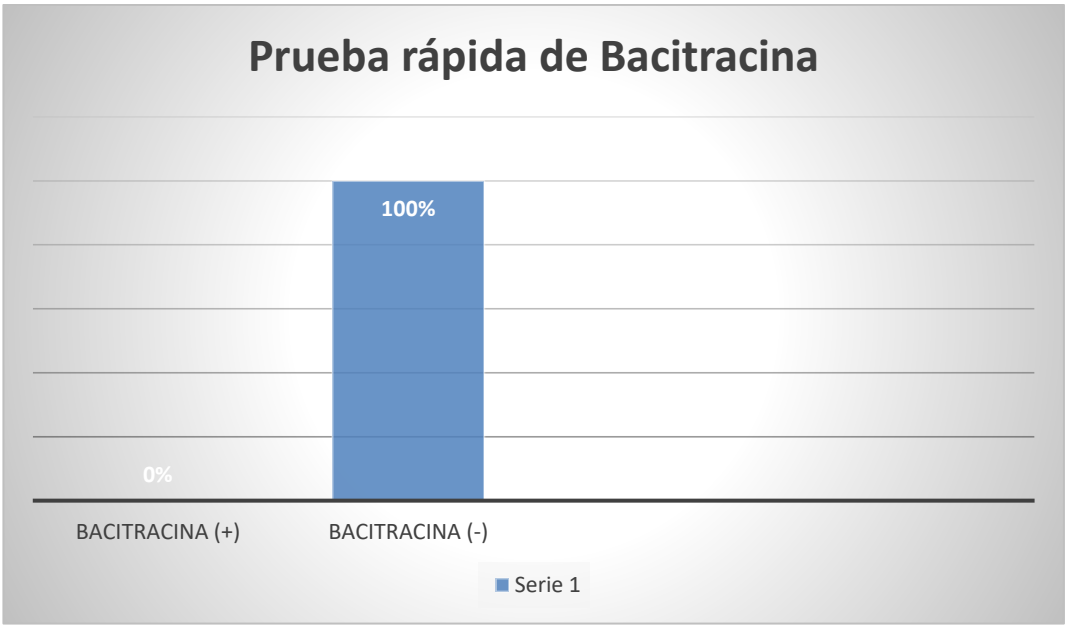


Figura 4*. La prueba de Batricina para identificacion de especies de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: La prueba de sensibilidad empleando el disco de bacitracina se identificó una resistencia del 100% (n= 100), con esto se excluyó la especie *S. pyogenes*. (Tabla 5, figura 4).

Tabla 6.Resultados difusión de disco con Optoquina para identificación de las especies de *Streptococcus sp*. Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Prueba de Optoquina	
	Optoquina (+)	**Optoquina (-)**
Número de muestras	6 (6%)	94 (94%)
Especie identificada	*Pneumoniae*	*Viridans*

Elaborado por: Investigadora

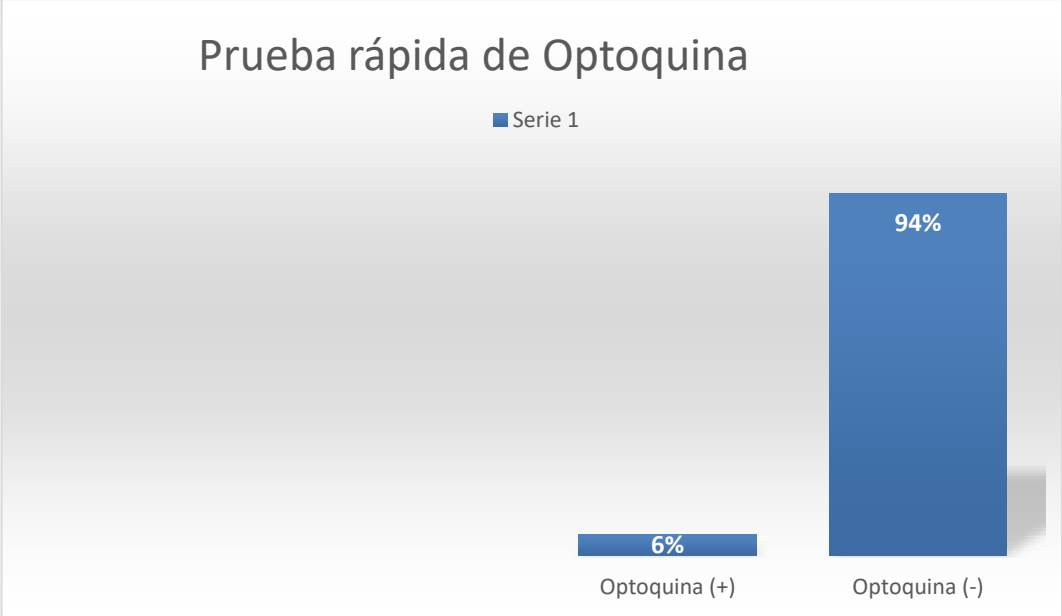


Figura 5*. Prueba de Optoquina para identificación de especies de Streptococcus sp. Laboratorio Clínico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación:

La prueba de sensibilidad empleando el disco de optoquina, para diferenciar la especie *S. Pneumoniae* de *S. viridans* se observó una sensibilidad con un halo >14 mm, dando un un 6% (n=6) para *S. Pneumoniae* y con una resistencia de 94% (n=94) es decir *S. Viridans*. (Tabla 6, figura 5).

Tabla 7. Resultados finales del método manual. Laboratorio Clínico Zamora 2024.

	Especie	Número	Porcentaje
Streptrococcus	*Viridans*	94	94%
	Pneumoniae	6	6%
	Pyogenes	0	0
TOTAL		100	100%

Elaborado por: Investigadora

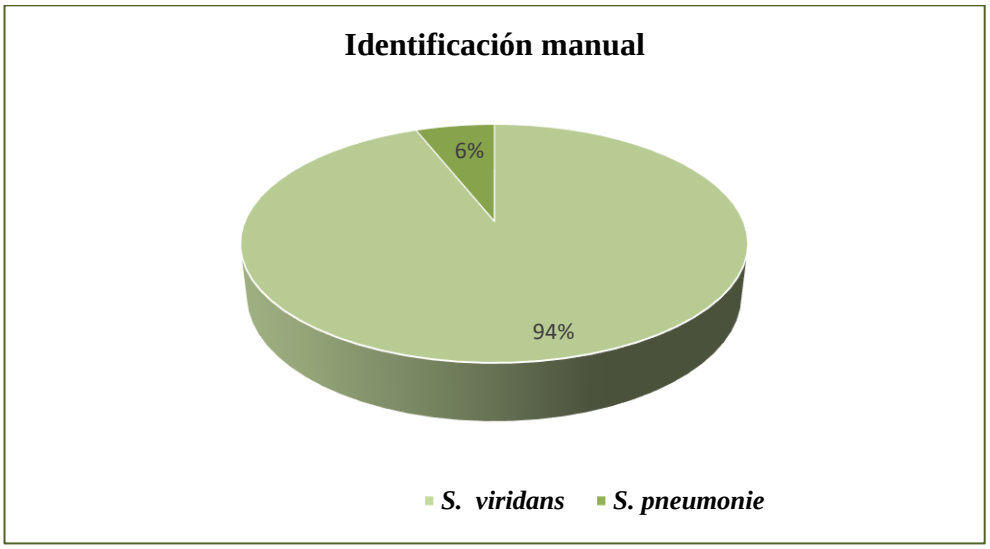


Figura 6. *Resultados de la identificacón manual. Laboratorio Clínico Zamora 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: De las 100 muestras de secreción orofaríngea en la investigación, el 94 % (n= 94) se identificó *S. viridans*, mientras que el 6 % (n= 6) restante fue *Pneumoniae* (Tabla 7, Figura 6).

Tabla 8. Resultados de la identificación automatizada en el equipo Vitek 2 Compact. Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato.

Género	Especie	Número	Porcentaje
Streptrococcus	***Viridans***		
	Mitis	25	25
	Oralis	25	25
	Cristatus	3	3
	parasanguinis	9	9
	Salivarius	4	4
	Uberis	2	2
	Gordonii	5	5
	Mutans	1	1
	Sanguinis	12	12
	Alactolyticus	3	3
	Total	89	89
	Pneumoniae	6	6
	Otros	5	5

Elaborado por: Investigadora

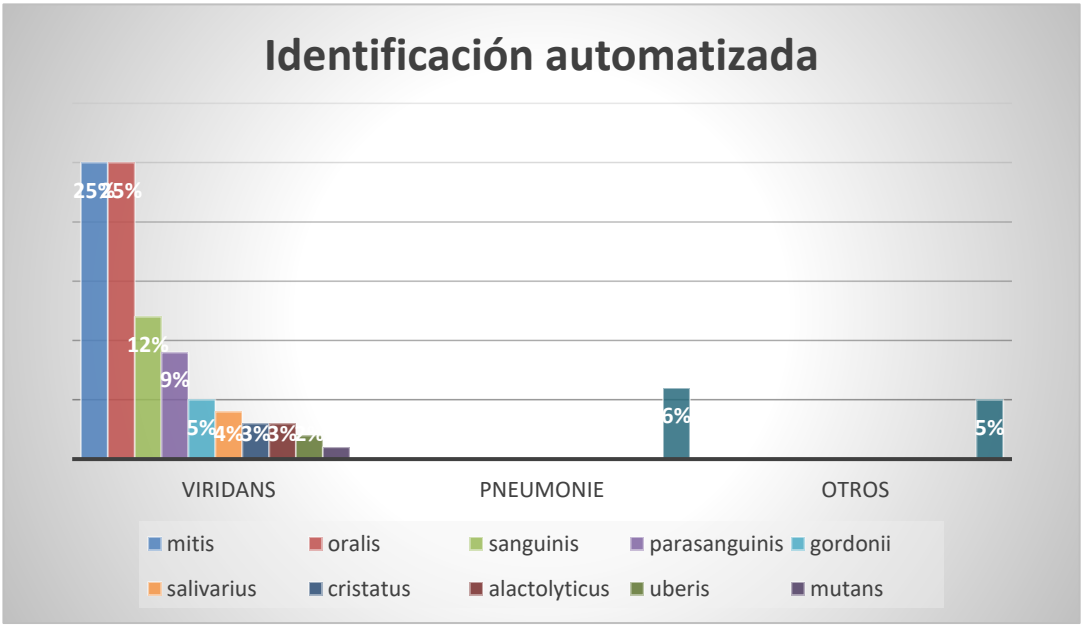


Figura 7. *Resultados de la identificación automatizada en el equipo Vitek 2 Compact. Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: El método automatizado permitió la identificación de las diferentes sub-especies de *S. viridans*, siendo el más frecuente el *S. viridans mitis* y el *S. viridans*

oralis, con 25 % cada uno, seguido de *S. viridans sanguinis* con 12 % y *S. viridans parasanguinis* con 9% S. g*ordonii* con 5% *S. salivarius* 4%, *S. alactolyticus* y *S. cristatus* 3%, *S. uberis 2%*, por último, *S. mutans 1%*. Para otros microorganismos identificados dio un 5%, para *S. pneumoniae* 6%. (Tabla 8, Figura 7).

Tabla 9. Resultados de la identificación manual vs automatizada. Laboratorio Clínico Zamora 2024 y Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato.

		Metodología Manual		Metodología Automatizada	
Género	**Especie**	**Número**	**Porcentaje**	**Número**	**Porcentaje**
Streptrococcus	*viridans*	94	94%	89	89%
	pneumoniae	6	6%	6	6%
	pyogenes	0	0%	0	
	otros	0	0%	5	5%

Elaborado por: Investigadora

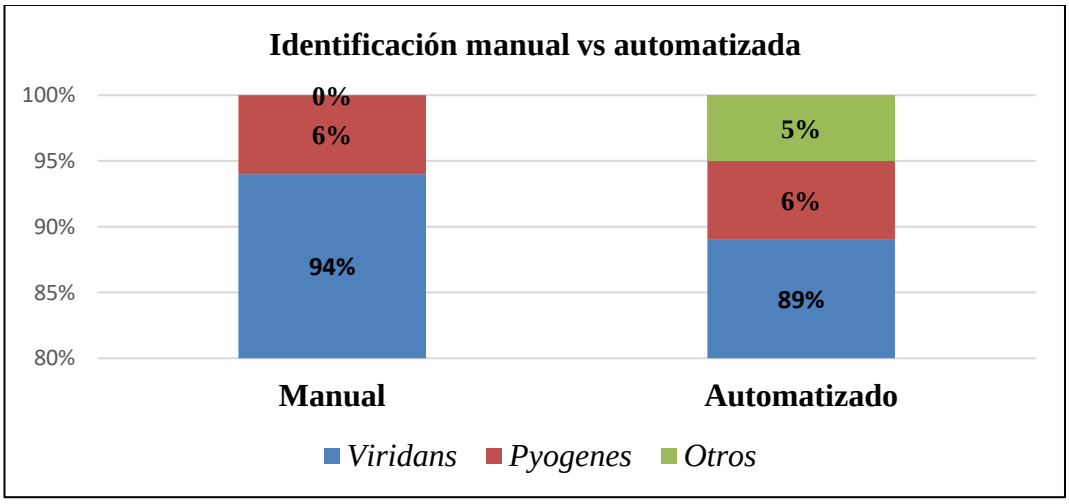


Figura 8*.Resultados de la identificacion manual Vs automaitzada. Laboratorion Clínico Zamora y Laboratorio Clínico de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Universidad Técnica de Ambato 2024.*

Elaborado por: *Investigadora*

Interpretación: En la identificación de *S. pneumoniae* existió una similitud del 6% (n=6) según ambas metodologías, tanto manual como el automatizada, ningún método

determinó la presencia de la especie *S. pyogenes*, y el *S. viridans* se evidenció en el 89 % (n= 89) de las muestras según el método automatizado, a diferencia del método manual con un 94 % (n= 94). El método automatizado al tener una mayor sensibilidad y capacidad de detección, logró identificar otros tipos de microorganismos no correspondientes a *Streptococcus sp* 5 % (n= 5), además clasifica las sub-especies de *S. viridans*. (Tabla 9, Figura 8L).

4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

Para la comprobación de la hipótesis se determinó el grado de concordancia inter-observador con la herramienta estadística del coeficiente kappa (k), puesto que permitió conocer el grado de concordancia entre dos observadores, es decir, en este estudio, hasta qué punto ambos métodos coinciden en su medición.

PLANTEO DE LA HIPÓTESIS:

La hipótesis planteada fue que "La identificación por el método convencional del *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada presenta una alta concordancia".

Se realizó por medio de la prueba de coeficiente kappa (k), el cual puede tomar valores entre -1 y +1.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1):

La hipótesis a verificar fue que "La identificación por el método convencional (Mc) del *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada (Ma) presenta una alta concordancia".

H1: Mc = Ma

HIPÓTESIS NULA (Ho):

La hipótesis a verificar fue que "La identificación por el método convencional (Mc) del *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada (Ma) NO presenta una alta concordancia".

Ho: Mc ≠ Ma

Concordancia inter observadores con método kappa

Se verificó el nivel de concordancia de los resultados obtenidos por el método convencional al comparar con las obtenidas por el método automatizado, es decir, la concordancia entre métodos de identificación, para establecer si es indiferente utilizar uno u otro.

El test de kappa toma valores entre -1 y +1, en este rango, los resultados cercanos a +1, tiene mayor grado de concordancia entre métodos y los cercanos a -1, mayor grado de discordancia. El valor 0 demuestra que la concordancia observada es producto del azar.

Interpretación de los valores del Índice Kappa:

Valor de k	Fuerza de la concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena/casi perfecta

Regla de decisión

De acuerdo a la interpretación de los valores del coeficiente de kappa, se establecieron dos opciones de posibilidades para aceptar o rechazar las hipótesis planteadas, donde:

Si el valor de kappa es < 0.20 (pobre concordancia), 0.21 – 0.40 (débil concordancia) a 0.41 – 0.60 (moderada concordancia) se acepta hipótesis nula y se rechaza hipótesis alterna

Si el valor de kappa es 0.61 – 0.80 (buena concordancia) a 0.81 – 1.00 (muy buena concordancia), se acepta hipótesis alterna y se rechaza hipótesis nula

Cálculos realizados y obtención de coeficiente kappa:

Tabla 10. Tabla cruzada método automático vs método manual para detección de *S. pneumoniae.*

			Método manual		
			No	Si	Total
Método automático	No	Recuento	94	0	94
		% dentro de Manual	100,0%	0,0%	94,0%
	Si	Recuento	0	6	6
		% dentro de Manual	0,0%	100,0%	6,0%
Total		Recuento	94	6	100
		% dentro de Manual	100,0%	100,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico[a]	T aproximada[b]	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	1,000	,000	10,000	,000
N de casos válidos		100			

Realizado con el programa SPSS

Elaborado por: Investigadora

Interpretación: Se realizó la correlación entre los dos métodos utilizados para la detección y diagnóstico del *S. pneumoniae* en las muestras analizadas. Se obtuvo que en cuanto a la detección de *S. pneumoniae,* se evidenció una correlación significativa y con una concordancia casi perfecta de acuerdo con un Índice Kappa igual a 1 (Tabla 10).

Tabla 11. Tabla cruzada método automático vs método manual para detección de *S. viridans.*

			Método manual		
			No	Si	Total
Método automático	No	Recuento	6	5	11
		% dentro de Manual	100%	5,3%	11,0%
	Si	Recuento	0	89	89
		% dentro de Manual	0%	94,7%	89%
Total		Recuento	6	94	100
		% dentro de Manual	100,0%	100,0%	100,0%

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico[a]	T aproximada[b]	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,681	,132	7,186	,000
N de casos válidos		100			

Realizado con el programa SPSS

Elaborado por: Investigadora

Interpretación: Se realizó la correlación entre los dos métodos utilizados para la detección y diagnóstico del *S. viridans* en las muestras analizadas. Se obtuvo que en el caso del *S. viridans*, se presentó correlación buena entre ambos métodos con un Índice Kappa igual a 0,681 (Tabla 11).

Decisión

Los resultados obtenidos permitieron establecer que la identificación del *S. pneumoniae* y del *S. viridans* en las muestras analizadas tanto por el método convencional como por el automático tienen una concordancia entre muy buena/casi perfecta a buena respectivamente, por lo que se acepta la hipótesis alterna, cumpliéndose H1: Mc = Ma "La identificación por el método convencional (Mc) del *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada (Ma) presenta una alta concordancia"

4.3.DISCUSIÓN

Las infecciones causadas por el género *Streptococcus* spp. han mostrado un incremento en frecuencia, con un impacto significativo en la mortalidad global. Este patógeno oportunista coloniza principalmente la mucosa del tracto respiratorio superior, particularmente la nasofaringe, como han documentado Cortéz [2] y Daza [32]. El presente estudio se centra en evaluar la concordancia entre dos métodos de identificación de *Streptococcus* spp.: el método manual y el método automatizado (Vitek 2), utilizando muestras de cultivo orofaríngeo de pacientes que acudieron al laboratorio Zamora.

Durante la investigación, se realizaron análisis bacteriológicos en muestras de secreción orofaríngea empleando tanto la metodología convencional como la automatizada. Los resultados revelaron una concordancia del 100% en la identificación de *S. pneumoniae* entre ambas técnicas. En cuanto a *S. viridans*, el método convencional presentó una concordancia del 94%, mientras que el Vitek 2 mostró un 89%. Además, *S. pyogenes* no fue identificado por ninguno de los métodos. Estos hallazgos son consistentes con la investigación publicada por la Sociedad Española de Quimioterapia, la cual reportó una correlación del 100% en la identificación de *C. jejuni* y *C. coli* entre el VitekMSTM y el método convencional [49].

Es importante destacar que en la población estudiada no se identificó *S. pyogenes*, el principal agente causante de faringoamigdalitis. Esta ausencia podría estar relacionada con el grupo etario de la muestra, dado que *S. pyogenes* afecta predominantemente a la población pediátrica. Según el estudio de David Espadas Maciá y colaboradores sobre infecciones por *Streptococcus pyogenes* en la edad pediátrica, la faringoamigdalitis por este microorganismo sigue siendo común en la infancia, con una incidencia creciente en menores de 5 años [50]. Además, un estudio realizado en Ecuador por Gabriela Vasco y colaboradores en noviembre de 2015 —una época caracterizada por las lluvias en Quito— no identificó *S. pyogenes* en 77 muestras de estudiantes mediante pruebas de StrepA, obteniendo resultados negativos en todas ellas, excepto en tres casos donde se reportó cultivo positivo para *S. pyogenes* [51].

En este estudio se logró identificar al *S. pneumoniae*, evidenciado en el 6% de la muestra según ambos sistemas, el *S. viridans* se evidenció en el 89 % de las muestras según el método automatizado y en el 93 % de las muestras según el método manual, además con el método automatizado, se pudo diagnosticar diferentes tipos de *S. viridans*, siendo el más frecuente el *S. viridans mitis*, aspecto en el cual se concuerda con autores como Weiser, Ferreira y Paton [3], Rodas et al., [25] y el Departamento de Epidemiología, Gobierno de Chile [26], quienes advierten que se trata de patógenos causantes de enfermedades como la neumonía, en el caso del *S. pneumoniae* y de la espondilodiscitis, en el caso del *S. viridans mitis*, de allí la importancia de su identificación exacta y oportuna. [9] [10].

En cuanto a la identificación de la especie *S. viridans* en este estudio se demostró una alta prevalencia de la misma, pero el método manual fue limitante para la identificación de las sub especies a diferencia del método automatizado que identifico con mayor frecuencia a *S. mitis y oralis* con un 25% cada uno, dato semejante al estudio hecho por Rozkiewicz D y sus colaboradores para determinar la Tasa de prevalencia y susceptibilidad a antibióticos de estreptococos del grupo viridans oral (VGS) en una población infantil sana, en el cual tomaron muestras de hisopados faríngeos y placas dentales supragingivales para estudios microbiológicos de 206 niños sanos, de 4 a 18 años de edad, logrando aislar un total de 239 cepas de VGS pertenecientes a 8 especies de frotis faríngeos de 192 (93,2%) niños, las cepas de VGS de especies de *S. mitis* se aislaron con mayor frecuencia. [52]

Para concluir en cuanto al tema costo beneficio de ambas identificaciones, según Alomaliza Tisalema Yadira Estefanía realizada en la ciudad de Ambato con su tema: "Determinación de los costos del cultivo y antibiograma de secreción faríngea en el área de microbiología del laboratorio de análisis bioquímicos y bacteriológicos" llegó a la conclusión que el costo del cultivo y antibiograma automatizado de secreción faríngea tiene un valor de 27,30 dólares, en el estudio de mercado en los diversos laboratorios locales tienen valores entre 10,00 y 25,00 dólares, actualmente por los diferente factores socio-económicos que atraviesa el país la comunidad ambateña por

el desconocimiento o ignorancia acerca de los beneficios de la automatización prefieren el método convencional, el cual es relativamente bajo, aunque tienen sus desventajas como el tiempo de respuesta es más largo, aproximadamente 72hs, no identifica subespecies, existe un mayor riesgo de contaminación en relación al equipo Vitek [53]

Adicionalmente, algunos referentes teóricos como la investigación realizada por Castellanos[18], no solo demostró que el método automatizado Vitek 2 Compact es altamente sensible para identificar bacterias Gram positivas, también estimaron un tiempo promedio de 4.58 horas en todo el proceso, aspecto que también lo afirman autores como Daza [32] en su estudio.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

5.1.CONCLUSIONES

- Se estableció la presencia de *Streptococcus sp* por el método manual empleando la tinción gram donde se observó cocos gram positivos en cadena y catalasas negativas en 108 muestras, para discernir de *enterococcus* se utilizó la bilis esculina dando positivo en 8 muestras, para clasificarlos según Lancefield se observó las hemolisis, siendo ésta: alfa hemolisis en las 100 muestras restantes, para diferenciar la especie se empleó las Bacitracina dando resistencia en todas, a diferencia de la Optoquina que se obtuvo 6 muestras sensibles y las 94 resistentes, concluyendo que en el método manual se identificó 94% de *S. viridans*, un 6% *S. pneumoniae* y 0% *S. pyogenes*; al comparar con el método automatizado empleando el equipo Vitek 2 Compact se obtuvo un 89% para *S. viridans*, 6 % para *S. pneumoniae*, 0% *S. pyogenes*, y un 5% para otros tipos de microorganismos.

- Se determinó las coincidencias del diagnóstico entre los dos métodos siendo casi similares, puesto que en las dos metodologías se identificaron *Streptococcu*s sp, existiendo una correlación significativa para detección de *S. viridans*, con una concordancia perfecta en *S pneumoniae y S. pyogenes.*

- Se acepta la hipótesis planteada acerca de que la identificación por el método convencional para la identificación de *Streptococcus sp* frente a la metodología automatizada esta presento una alta concordancia para *S. pneumoniae* en un índice Kappa de 1 y para *S. viridans* un índice Kappa 0,635 es decir que se obtuvo una concordancia buena.

- De acuerdo con los resultados obtenidos el método automatizado frente al método manual los dos son confiables con la diferencia que el automatizado es

mejor porque se tarda en obtenerse los resultados en menor tiempo y la posibilidad de identificar otros sub. géneros de *Streptococcus sp* menos comunes son excelentes, puesto que en casos periodontales son patógenos como un ejemplo *mutans* siendo de gran utilidad la identificacion de estos sub grupos.

5.2.RECOMENDACIONES

- Se recomienda diseñar una propuesta de mejora de habilidades en el laboratorio clínico Zamora.

5.3.BIBLIOGRAFÍA

1. Espadas D, Macían E, Borrás R, Poujois S, Muñoz J. Infección por estreptococo pyogenes en la edad pediátrica: desde faringoamigdalitis aguda a infecciones invasivas. Anales de pediatría. 2018; 88(2).
2. Cortés D, Madolnado , Rivacoba M, Maza V, Valenzuela R, Santolaya M. Caracterización clínica y microbiológica de episodios de bacteriemia por Streptococcus grupo viridans en niños con cáncer y neutropenia febril de alto riesgo. Rev. chil. infectol. 2020; 37(4).
3. Weiser J, Ferreira D, Paton J. Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. Nat Rev Microbiol. 2018; 16(6): p. 355-67.
4. Binghuai L, Fang Y, Fan Y, Chen X, Wang J, Wang D. High Prevalence of Macrolide-resistance and Molecular Characterization of Streptococcus pyogenes Isolates Circulating in China from 2009 to 2016. Front Microbiol. 2017; 8.
5. Villafañe L, Castro R. Portación faringea de Streptococcus pyogenes y perfiles de sensibilidad en escolares de Cartagena. Duazary. 2015; 12(2): p. 112-117.
6. Pérez C, Sención K, Castillo E, Santana K. Incidencia de faringoamigdalitis aguda y determinación del antígeno del estreptococo β-hemolítico del grupo A en pacientes que asistieron a UNAP de Villa Sombrero, Baní, Provincia Peravia, República Dominicana, período mayo- julio de 2014. Ciencia y Salud. 2017; 1(1): p. 33.
7. López M, Gómez J, López J, Sanz N, Muñoz C, Regodón M. Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method. Rev Esp Quimioter. 2015; 28(5): p. 242-6.

8. Rychert J, Burnham C, Bythrow M, Garner O, Ginocchio C, Branda J. Multicenter evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive aerobic bacteria. J Clin Microbiol. 2013; 51(7): p. 2225-31.

9. Efstratiou A, Lamagni T. Epidemiología de Streptococcus pyogenes. [Online].; 2017. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343616/.

10. Alves R, Bevacqua D. Investigación de la portación de Streptococcus Pyogenes en población adulta sana. Calidad de vida. 2012; 5(8): p. 3-10.

11. Soria N, Guilart M, Guerrero C, Mariño M. Aislamiento del estreptococo beta-hemolítico en niños asintomáticos. MEDISAN. 2017; 21(1).

12. Lean W, Arnup S, Danchin M, Steer A. Rapid Diagnostic Tests for Group A Streptococcal Pharyngitis: A Meta-analysis. Pediatrics. 2014; 134(4): p. 771-781.

13. Pascual M. Mecanismos de patogenicidad de Streptococcus pyogenes. Tesis. Palma de Mallorca: Universidad de las Islas Baleares, Facultad de Ciencias; 2017.

14. Banerjee S, Ford C. Rapid Tests for the Diagnosis of Group A Streptococcal Infection: A Review of Diagnostic Test Accuracy, Clinical Utility, Safety, and Cost-Effectiveness Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2018.

15. Dunne E, Marshall J, Baker C, Manning J, Gonis G, Steer A. Detection of group a streptococcal pharyngitis by quantitative PCR. BMC Infect Dis. 2013;: p. 312.

16. Tazi A, Reglier H, Raymond J, Adam J, Trieu P, Poyart C. Comparative evaluation of VITEK 2 for antimicrobial susceptibility testing of group B Streptococcus. J Antimicrob Chemother. 2007; 59(6): p. 1109-13.

17. Moon H, Hwa S, Chung H, Lee M, Lee K. Performance of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. J Med Microbiol. 2013; 62(9): p. 1301-1306.

18. Castellanos M, Mejía M, Jiménez Y, Pichardo L, Franco M, Parra I. Identificación y susceptibilidad bacteriana utilizando equipo automatizado Vitek 2 XL en el laboratorio del Hospital Infantil de México. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2017; 64(1): p. 50-53.

19. Rocca M, Barrios R, Zintgraff J, Martínez C, Irazu L, Vay C, et al. Utility of platforms Viteks MS and Microflex LT for the identification of complex clinical isolates that require molecular methods for their taxonomic classification. PLoS One. 2019; 14(7).

20. Sting C, Eschrich K, Thiel J, Borgmann T, Schaumann R, Rodloff A. Identification of viridans streptococci With Matrix-Assisted Laser Desorption & Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry by an In-house Method and a

Commercially Available System. Ann Lab Med. 2017; 37(5): p. 434-437.

21. Pan F, Zhao N, Zhao W, Wang C, Sun Y, Zhang H. Performance of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Systems for Identification of the Viridans Group Streptococci. Infect Drug Resist. 2023.

22. Cerda J, Villarroel L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. Rev. chil. pediatr. 2008; 79(1): p. 54-58.

23. Vázquez G, Ochoa E, Loearracilla I, Rodarte G, Chiharu M. Concordancia del diagnóstico del cirujano con el diagnóstico histopatológico en pacientes adultos intervenidos quirúrgicamente por apendicitis aguda. Cir Cir. 2018; 86(6): p. 534-538.

24. González A, Pérez S, Rodríguez A, Diez H, Barrientos S. Perfil antibiótico de estreptococos del grupo viridans aislados de cavidad oral en individuos con uso prolongado de antibióticos. Rev. Estomatol. Herediana. ; 32(2).

25. Lopardo H. Introducción a la microbiología clínica: Editorial de la Universidad de La Plata; 2016.

26. Heine A, García S, Barberis C, Vay C, Mollerach M, Famiglietti A. Identificación y sensibilidad a los antimicrobianos de aislados de estreptococos del grupo viridans provenientes de pacientes internados en un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires. Rev. argent. microbiol. 2019; 51(1).

27. Rodas A, Rivera S, Pérez S, Orellana M. La importancia de la vacunación contra Streptococcus pneumoniae. Honduras Pediátrica. 2022; 35(1).

28. Departamento de Epidemiología, Gobierno de Chile. Enfermedad Invasora por Streptococcus pneumoniae. [Online].; 2022. Available from: http://epi.minsal.cl/enfermedad-invasora-por-streptococcus-pneumoniae-6/.

29. Bennett J, Dolin R, Blaser M, Mandell D. Principles and practice of infectious diseases. [Online].; 2020. Available from: https://www.clinicalkey.com/dura/browse/bookChapter/3-s2.0-C2016100010X.

30. Organización Mundial de la Salud. Aumento de la incidencia de la escarlatina y de infecciones invasivas por estreptococos del grupo A en varios países. [Online].; 2022. Available from: https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON429.

31. Santos M, Camacho M, Rodríguez C, Álvarez M, González L. Streptococcus pyogenes como agente etiológico de epiglotitis aguda. Anales de Pediatría. 2023.

32. Vomero A, García G, Cedrés L, Motta I, Algotra G, Pirez C. Enfermedades invasoras por Streptococcus pyogenes en población pediátrica. Caracterización clínico-molecular 2014-2020. Rev. chil. infectol. 2022; 39(5).

33. Gordillo T. AGENTES CAUSALES DE INFECCIÓN RESPIRATORIA

AGUDA Y SU SENSIBILIDAD FRENTE AL GRUPO DANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS, EN PACIENTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL “ISIDRO AYORA”PERIODO NOVIEMBRE 2011 ABRIL 2012. Loja: Universidda Nacional de Loja; 2012.

34. Daza D. Técnicas para la identificación de Streptococcus pyogenes como agente causal de faringoamigdalitis. Tesis. Riobamba, Ecuador: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2022.

35. Casanovas I, Jiménez G, Foronda C, Serrano M. Detección de Streptococcus pyogenes en muestras faringoamigdalares mediante técnica de detección de antígeno. Rev Esp Quimioter. 2020; 33(2): p. 137-138.

36. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 7th ed.: Elsevier; 2014.

37. Carrasco J, Jover l. Métodos estadísticos para evaluar la concordancia. Medicina clínica. 2008; 122(S1): p. 28-34.

38. Montero W, Pineda B, Léon G, Durán A. Las habilidades sociocientíficas y el trabajo de laboratorio en la especialidad de agroindustria en un colegio técnico de Costa Rica. Innovaciones Educativas. 2022; 24(37).

39. INSST. Streptococcus pyogenes. [Online].; 2022. Available from: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/streptococcus-pyogenes#:~:text=Streptococcus%20pyogenes%20pertenece%20a%20la,(diplococos)%20o%20m%C3%A1s%20bacterias.

40. Spellerberg B, Brandt C. Laboratory Diagnosis of Streptococcus pyogenes (group A streptococci). NIH. 2016.

41. Britania. PYR – A – ENT. [Online].; 2015. Available from: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/198_inserto_es.pdf.

42. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standars for Antimicrobial Susceptibilit Testing. 30th ed. USA; 2023.

43. Hernández R, Mendoza C. Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta Ciudad de México: McGraw Hill; 2018.

44. Rojas M. Tipos de Investigación científica: Una simplificación de la complicada incoherentenomenclatura y clasificación. REDVET. 2015; 16(1): p. 1-14.

45. Salinas P. Metodología d ela investigación. [Online].; 2008. Available from: http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/34398/metodologia_investigacion.pdf;jsessionid=FA518D156511B928603C7BE00BDE486E?sequence=1.

46. Tenenbaum. Research in sport sciences. Quantitative and qualitative approaches. Meyer & Meyer sport, 2015.. 2017.

47. Ñaupas H, Mejía E, Novoa E, Villagómez A. Metodología de la investigación cuantitaiva, cualitativa y redacción de la tesis. 4th ed. Bogotá: Ediiones de la U;

2014.

48. Cvetkovic A, Maguiña J, Lama J, Correa L. Estudios transversales. Rev. Fac. Med. Hum. 2021; 21(1).

49.https://seq.es/wp-content/uploads/2016/09/seq_0214-3429_29_5_completo.pdf#page=40

50. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1695403317300565

51. http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v65n4/0120-0011-rfmun-65-04-00633.pdf

52. https://europepmc.org/article/med/17460837

53. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/37476/1/Alomaliza%20Tisalema%20Yadira.pdf

5.4.ANEXOS

Anexo 1 **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

HOJA DE FIRMAS DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: ***Coincidencias del diagnóstico del género Streptococcus entre método manual y el método automatizado en el laboratorio automatizado Zamora***.

Investigador Principal: María Cristina Zamora Sánchez- Luis A Martínez 0437 entre Bolívar y Rocafuerte - 0983025018

YO, Nombres completos del participante …….

❖ He recibido una explicación satisfactoria sobre el procedimiento del estudio, su finalidad, riesgos, beneficios y alternativas.

❖ He quedado satisfecho/a con la información recibida, la he comprendido, se me han respondido todas mis dudas y comprendo que mi participación es voluntaria.

❖ Doy mi consentimiento para el procedimiento propuesto y conozco mi derecho a retirarlo cuando lo desee, con la única obligación de informar mi decisión al médico responsable del estudio.

UTILICE EL SIGUIENTE CUADRO EN CASO DE PERSONAS ADULTAS LEGALMENTE COMPETENTES PARA FIRMAR ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA DD/MM/AAAA	NOMBRES COMPLETOS DEL PARTICIPANTE	N° DE CÉDULA	FIRMA

DATOS DE LA PERSONA QUE REALIZA EL PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA DD/MM/AAAA	NOMBRES COMPLETOS DEL RESPONSABLE	N° DE CÉDULA	FIRMA
	María Cristina Zamora Sánchez - Investigadora	**1804068375**	

Anexo 2 CONDICIONES PARA LA TOMA DE LA MUESTRA

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

Facultad de Ciencias de la Salud

Av. Colombia y Chile Ciudadela Ingahurco Teléf. 3730268 Ext.5226 E-mail: fcs_posgrado@uta.edu.ec

Ambato – Ecuador

CENTRO DE POSGRADOS

PROGRAMA DE LABORATORIO CLÍNICO

COHORTE 2023

Coincidencias del diagnóstico del género S*treptococcus* entre método manual y el método automatizado en el Laboratorio Automatizado Zamora

EDAD: **SEXO: F ( ) M ( )**

Código del paciente……

MARQUE CON UNA (X)

1. ¿Se Cepillo los dientes o utilizo enjuague bucal usted el día de hoy?

   SI ( ) NO ( )

2. ¿Está usted tomando algún antibiótico en estos últimos días?

   SI ( ) No ( )

3. ¿Ingirió usted alimentos el día de hoy antes de la toma de la muestra?

   SI ( ) No ( )

4. ¿Tiene síntomas de faringitis (Fiebre, dolor de garganta, amígdalas inflamadas)?

   SI ( ) No ( )

Anexo 3 MATERIALES



Coloración Gram

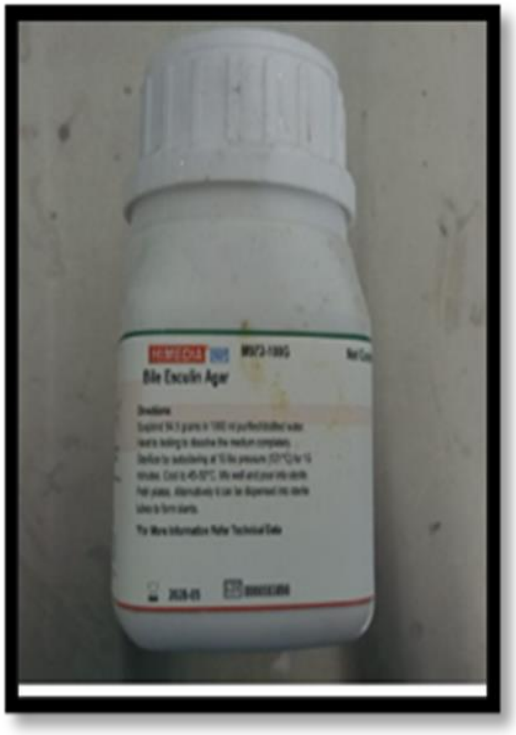


Agar sangre



Disco de Bacitracina y Optoquina





Medio de transporte Agar Bilis esculina

Anexo 4 EQUIPOS





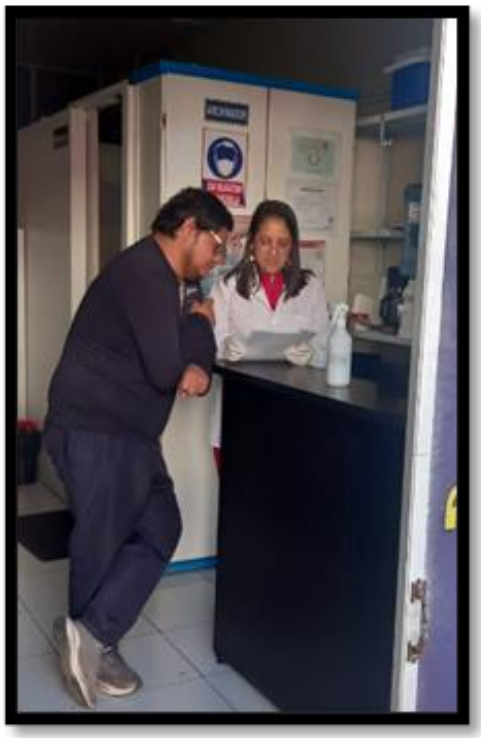

migali

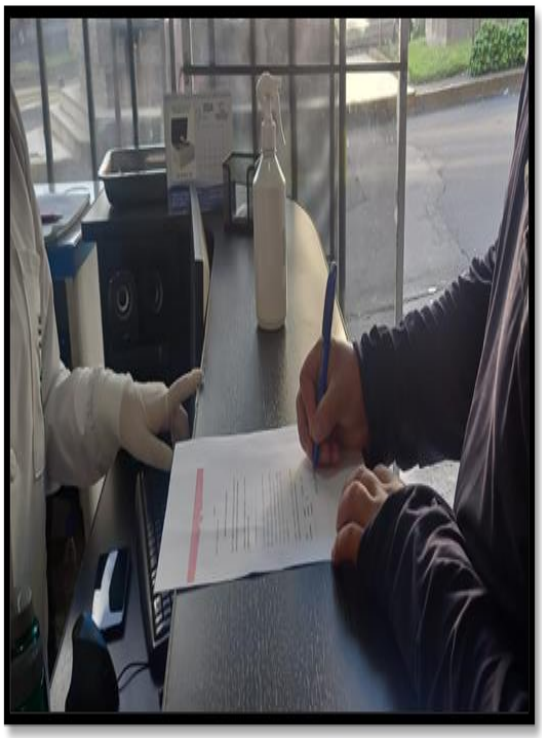






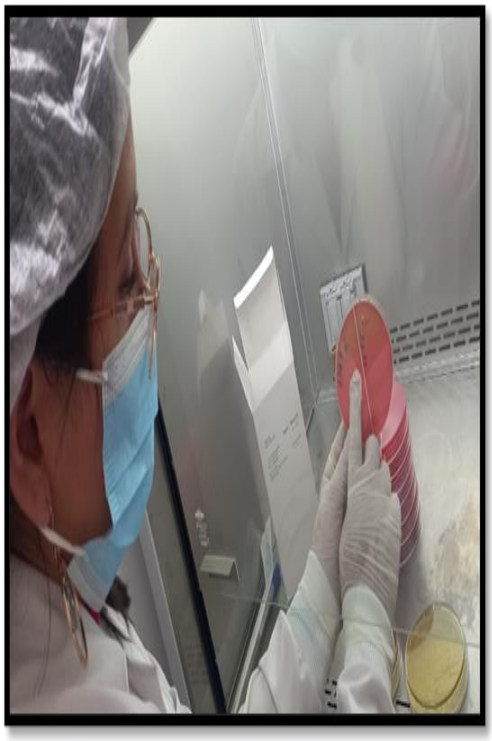
Anexo 5 MÉTODO MANUAL

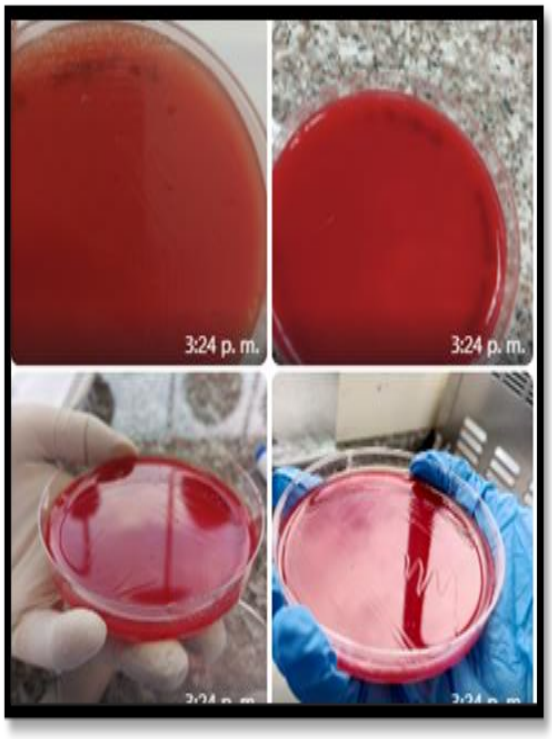


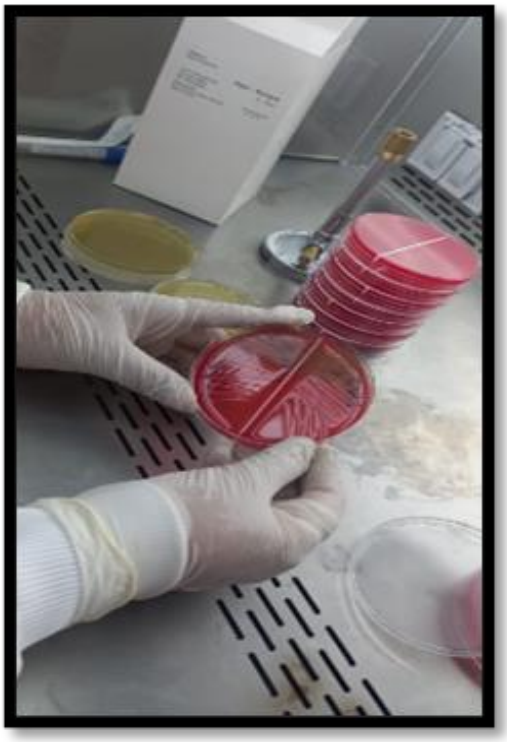


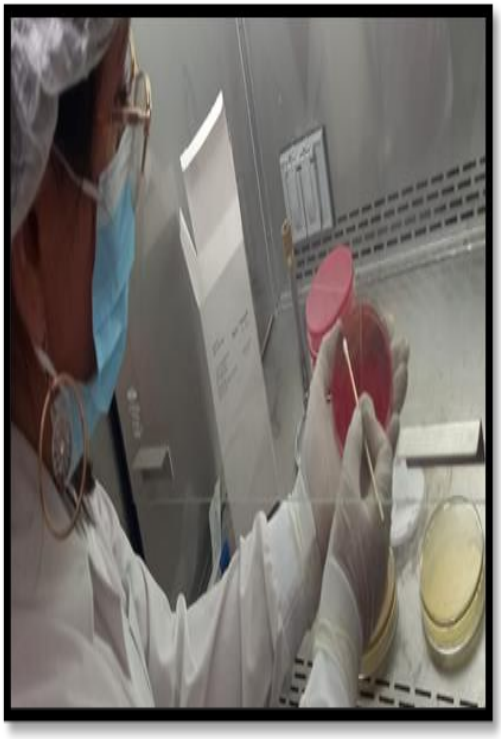







3:24 p. m.
3:24 p. m.





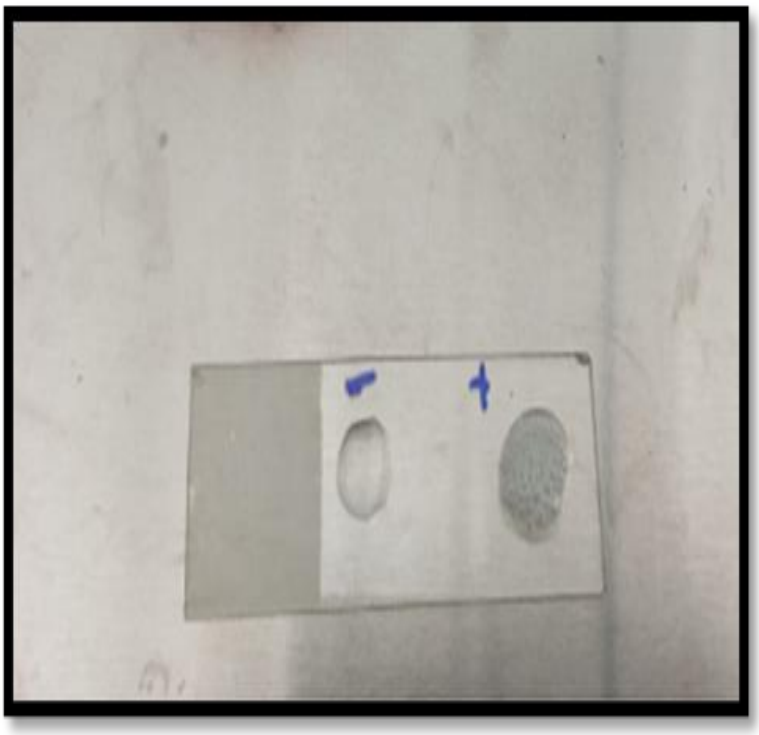


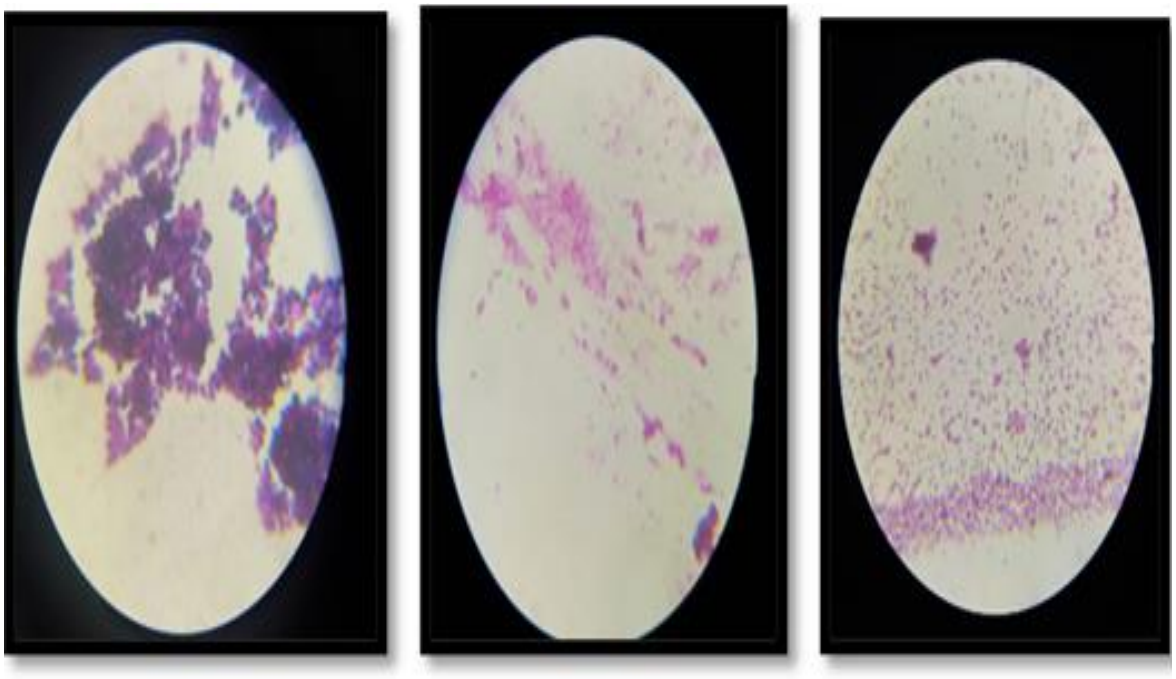


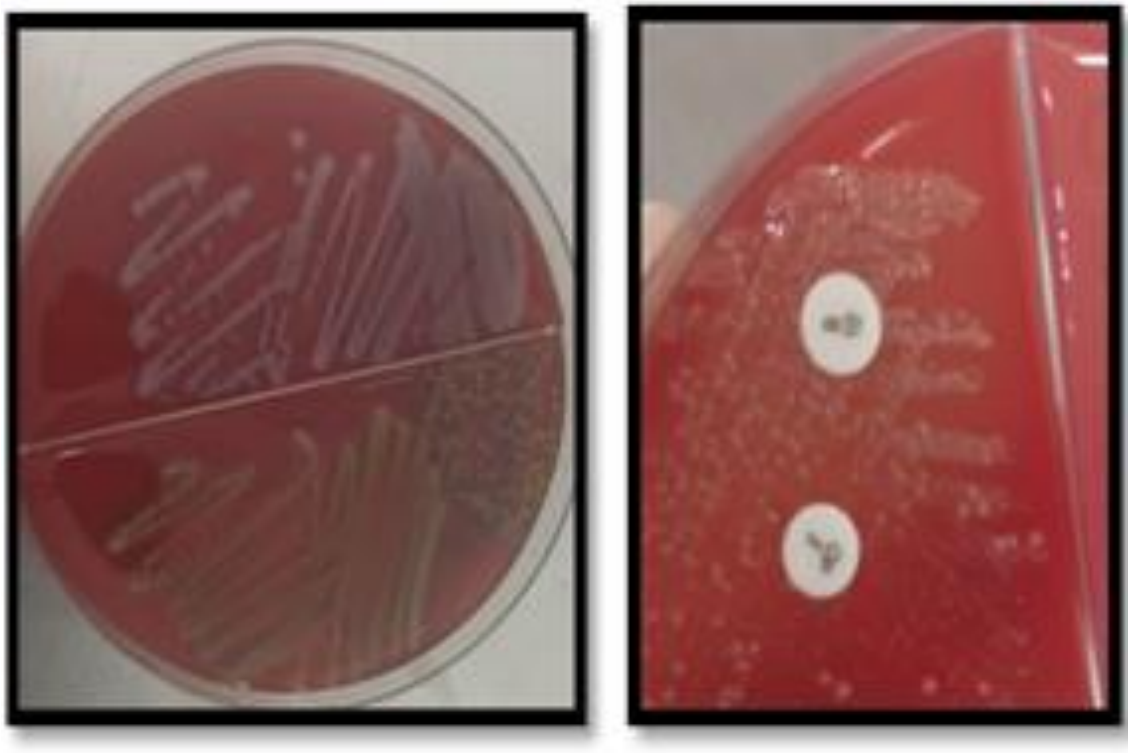


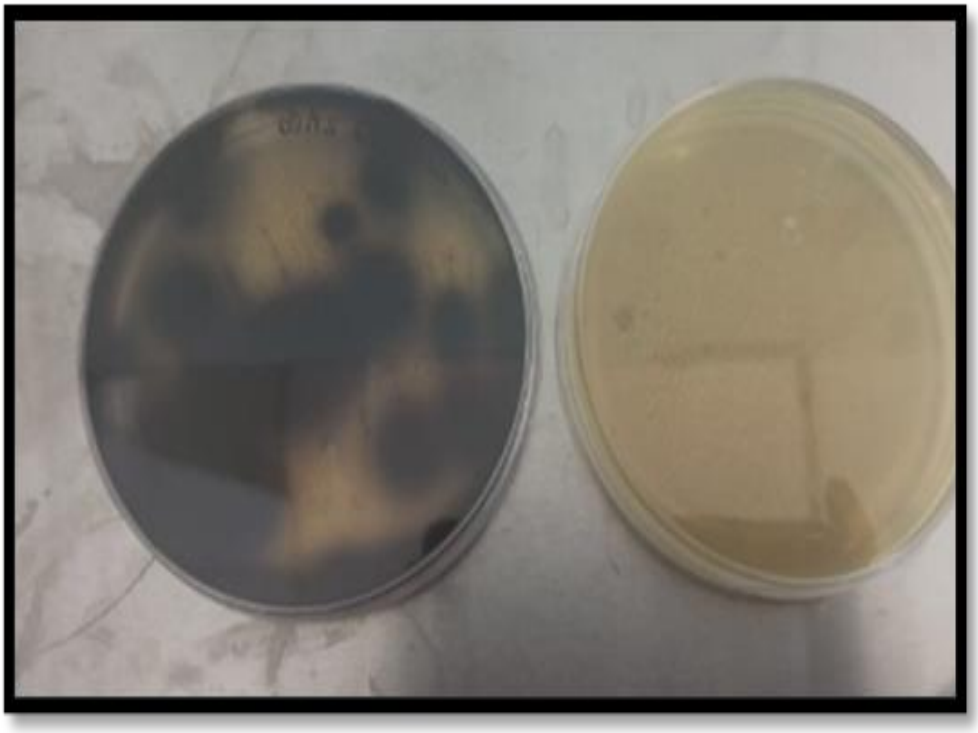










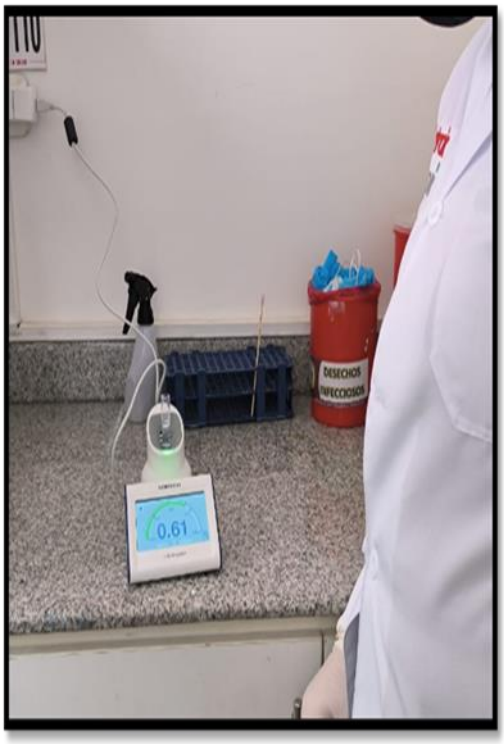


Anexo 6 MÉTODO AUTOMATIZADO

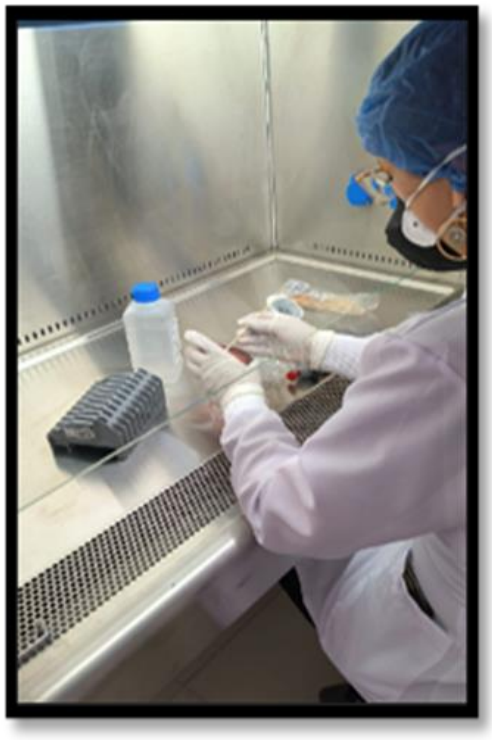














Anexo 7 FIRMA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE FIRMAS DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Titulo del estudio: *Coincidencias del diagnóstico del género Streptococcus entre método manual y el método automatizado en el laboratorio automatizado Zamora.*

Investigador Principal: María Cristina Zamora Sánchez- Luis A Martínez 0437 entre Bolivar y Rocafuerte - 0983025018

YO, Nombres completos del participante .....

- He recibido una explicación satisfactoria sobre el procedimiento del estudio, su finalidad, riesgos, beneficios y alternativas.
- He quedado satisfecho/a con la información recibida, la he comprendido, se me han respondido todas mis dudas y comprendo que mi participación es voluntaria.
- Doy mi consentimiento para el procedimiento propuesto y conozco mi derecho a retirarlo cuando lo desee, con la única obligación de informar mi decisión al médico responsable del estudio.

UTILICE EL SIGUIENTE CUADRO EN CASO DE PERSONAS ADULTAS LEGALMENTE COMPETENTES PARA FIRMAR ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA DD/MM/AAAA	NOMBRES COMPLETOS DEL PARTICIPANTE	N° DE CÉDULA	FIRMA
		1805164185	

DATOS DE LA PERSONA QUE REALIZA EL PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA DD/MM/AAAA	NOMBRES COMPLETOS DEL RESPONSABLE	N° DE CÉDULA	FIRMA
16/01/2024	María Cristina Zamora Sánchez - Investigadora	1804068375	

Anexo 8 REPORTE AUTOMATIZADO



UTA-LABB

Cliente de bioMérieux:
Informe de examen
Equipo Nº:
Editado por: UTA-LABB
Nombre del paciente:
Nº paciente:
Aislamiento: 13CZ-1 (Calificados)
Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2421913503739130 Prueba de instrumento: 00001A0FCF2D (VITEK2C)
Técnico de preparación: Laboratorio Clinico(UTA-LABB)

Bionúmero: 141011764315531
Cantidad de organismo:
Organismo seleccionado: Streptococcus sanguinis

Comentarios:	

Información de identificación	**Tarjeta:**	GP	**Nº de lote:**	2421913503	**Fecha caduc.:**	21-feb-2023 12:00 COT
	Estado:	Final	**Tiempo de análisis:**	6,65 horas	**Finalizado:**	01-ene-2022 22:28 COT
Origen del organismo	VITEK 2					
Organismo seleccionado	91% Probabilidad **Streptococcus sanguinis** Bionúmero: 141011764315531 Nivel de confianza: Identificación buena					
Organismos de análisis y pruebas a separar:						
Mensajes análisis:						
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Streptococcus sanguinis AMY(5),PUL(12),AGLU(5),						

Detalles bioquímicos

2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	-	9	BGAL	-	11	AGLU	+
13	APPA	+	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	(-)	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	+	26	PyrA	-	27	BGUR	-

Anexo 9 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código	Hemolisis beta	Hemolisis alfa	Hemolisis gama

Hoja de catalasa positiva o negativa

Código	Catalasa positiva	Catalasa negativa

Difusión de disco bacitracina y optoquina

Código	Bacitracina sensible	Bacitracina resistente	Optoquiina sensible	Optoquina resistente

Coloración Gram

Código	Cocos Gram positivos cadena	Cocos Gram positivos cadena	Balios Gram negativos	Levaduras (hongos)

Bilis esculina

Código	Bilis positiva	Bilis negativa

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 Titulo: Manual de Procedimiento para la Identificación de *Streptococcus sp* por el método manual y método automatizado

6.2 Descripción

La finalidad de este manual es estandarizar las técnicas y pruebas del Área de Microbiología del Laboratorio Zamora, con el objetivo de unificar los procedimientos y asegurar que sean confiables, reproducibles en cada resultado obtenido. En línea con este propósito, se busca detallar de manera lógica y secuencial los pasos a seguir en la realización de cada método, tanto en los manuales o convencionales que se basan en pruebas bioquímicas y a su vez con el método automatizado, de esta manera permitiendo medir la eficiencia y calidad de cada procedimientos. Los objetivos específicos de este manual es tener una coherencia de los procedimientos en las diferentes etapas analíticas, mejorando así los tiempos de entrega de resultados al usuario y evitando eventos adversos en la recolección y procesamiento de muestras.

6.3 Desarrollo de la propuesta

LABORATORIO CLÍNICO AUTOMATIZADO "ZAMORA"

Manual de Procedimiento para la Identificación de *Streptococcus*

Elaborado por:	Lcda. Cristina Zamora. **MAESTRANTE**	Firma: Fecha:	…….... …….....
Revisado por:	Lcdo. Mg. Germán Zamora **GERENTE PROPIETARIO**	Firma: Fecha:	…….... …….....
Aprobado por:	Bqf. Mg. Víctor Guangasig **TUTOR**	Firma: Fecha:	Firmado electrónicamente por: VICTOR HERNAN GUANGASIG TOAPANTA …….... …….....

IDENTIFICACIÓN MEDIANTE EL METODO MANUAL

6.3.1 OBJETIVO:

Diseñar una propuesta de mejora en la identificación del *Streptococcus sp* utilizando medios de cultivos mediante el método manual en el laboratorio clínico Zamora.

6.3.2 ALCANCE

Esta propuesta tiene un alcance para los analistas del área de Microbiología Clínica del Laboratorio Clínico Automatizado "Zamora" y para cualquier laboratorio en general, se encuentra ubicado en las calles Luis A Martínez entre Bolívar y Rocafuerte.

- **Ubicación:**

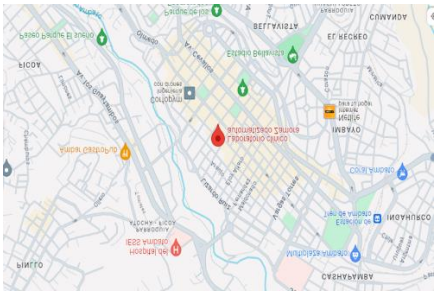


Figura 1. Ubicación geográfica del Laboratorio Zamora

6.3.3 RESPONSABLES

El cumplimiento del procedimiento adecuado para la identificación de *Streptococcus sp* es responsabilidad tanto del jefe del área de Microbiología Clínica como de los analistas que laboran en dicha área.

- **DEFINICIONES**

- **Medio de transporte Stuart:** medio semisólido utilizado para la transportación y preservación de microorganismos.
- **Bajalenguas**: dispositivo médico no invasivo de madera y estéril (desechable).

- **Agar sangre con sangre de cordero al 5**%: Es un medio de cultivo no selectivo enriquecido para la recuperación y aislamiento de toda clase de microorganismos Gram-positivos, Gram-negativos y hongos.
- **La sangre de cordero** ayuda a la visualización de microorganismos que producen hemolisis (alfa, beta o gamma).
- **Asa de siembra**: Es un instrumento que sirve para transferir microorganismos de un medio a otro. Se usa para realizar siembras y aislamientos de bacterias y hongos en medios de cultivo.
- **Mechero Bunsen**: Produce una llama abierta y se utiliza en laboratorios de microbiología para esterilizar las asas previo a su uso este funciona con gas combustible.
- **Cámara de bioseguridad tipo II:** Proporcionan protección al personal y medio ambiente, en su interior proporciona esterilidad y reduce la posible carga de partículas producidas en el proceso.
- **Cámara para anaerobios:** son equipos herméticos, esta cámara tienen concentraciones de oxígeno entre 0 y 5 PPM.
- **Disco de bacitracina:** La bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana, y a la concentración que se encuentra en los discos (0,04 U) inhibe el crecimiento de los estreptococos beta hemolíticos del grupo A.
- **Disco de optoquina: Es** un antibiótico que nos ayuda a distinguir *S. viridans* de *S. pneumoniae* ya que *S. viridans* es resistente y *S.pneumoniae* sensible.
- **Agar Bilis Esculina:** Medio de cultivo nutritivo y selectivo por la presencia de extracto de carne y peptona de carne que aportan nutrientes para el desarrollo microbiano como los estreptococos del grupo D, la presencia da un color negro en el agar.
- **Autoclavar:** Es un dispositivo que utiliza vapor de agua a alta presión y temperatura para destruir y estelilizar todos los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y esporas, en materiales y equipos.
- **Microscopio:** instrumento que se utiliza para ampliar objetos pequeños.

6.3.4 MATERIALES Y EQUIPOS

- Hojas para registro
- Medios de Stuart
- Baja lenguas
- Equipo de protección
- Agar sangre de cordero
- Cámara para anaerobios
- Estufa a 37 grados centígrados
- Coloración Gram (cristal violeta, yodo, alcohol cetona, safranina)
- Agua oxigenada (peróxido de hidrogeno al 50%)
- Agar de bilis esculina
- Disco de bacitracina 10µg
- Disco optoquina 5µg
- Regla para medir sensibilidad bacteriana
- Cámara de bioseguridad tipo II
- Hisopos estériles
- Densitómetro

6.3.5 PROCEDIMIENTO

6.3.5.1 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DEL PACIENTE

Para la recolección de la información sobre el paciente tomar en cuenta lo siguiente:

- Mantener un buen diálogo con el paciente.
- Preguntar sobre: Síntomas actuales y tiempo de duración de los mismos
- No estar con tratamientos antes de la toma de la muestra
- El paciente recibirá una serie de instrucciones previa a la toma de la muestra que permitan obtener una muestra de calidad, para ello se le explicará que no debe cepillarse los dientes, no usar enjuague bucal, no haya ingerido alimentos.

6.3.5.2 TOMA DE MUESTRA

Al paciente hacerle sentar con la espalda recta y la cabeza hacia atrás, y explicar que el proceso de toma de muestra tiene riesgos mínimos como náuseas o picazón en la faringe. Hay que pedir que abra la boca se presionará la lengua hacia abajo con un baja lenguas, se frotará un hisopo estéril en la parte posterior de la garganta, alrededor de las amígdalas evitando la contaminación con flora bucal así evitar la contaminación cruzada. con el hisopo

se realizar una placa para Gram y posteriormente se guarda en el Stuart.

6.3.5.3 SIEMBRA DE LA MUESTRA

Todo este proceso de siembra se realiza dentro de la Cámara de Bioseguridad tipo II para protección personal y una are estéril para del inocuo.

- Obtenida la muestra se realizar la siembra rápidamente para evitar la pérdida de viabilidad.
- Para el cultivo de *Streptococcus sp* se utiliza el agar sangre preferiblemente enriquecido con sangre de carnero al 5%
- Con el hisopo realizar inoculo haciendo girar en la parte superior de la placa del agar sangre.
- Se procede a realizar por agotamiento en tres direcciones para obtener colonias aisladas y puras.
- Posteriormente se coloca en una cámara para anaerobios y se lleva a la incubadora de 35 a 37° C durante 24 a 48 horas en caso de no presentar crecimiento.

6.3.5.4 OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN

- Realizar la prueba de la catalasa para verificar si es un *Streptococcus sp* o *Staphylococcus sp* mediante el peróxido de hidrogeno.
- Identificar en el microscopio con el lente de 100x cocos gram positivos con la coloración Gram si se agrupan formando cadenas o racimos.
- Observar en el agar sangre las colonias las cuales son blancas o grises, secas estas pueden estar rodeadas de beta, gama, alfa hemólisis.

- Si existe la presencia de hemólisis ver a que especie pertenece *(S. pyogenes, S. viridans, S.pneumoniae y Enterococus).*

- Realizar un estriamiento de las colonias puras y colocar el disco de Bacitracina (disco de 10 ug) si se produce cualquier halo de inhibición se dice que es positiva, para *Streptococo* β hemolítico del grupo A *(pyogenes).* También se coloca el disco de optoquina esta nos ayuda a identificar *S viridans* de *S. pneumoniea* siendo *viridans* (Resistente) con un halo menor a 14 y *pneumoniea*

- Se inocula colonias en Agar de bilis esculina para identificar *Enterococcus, Streptococcus* del grupo D si es positivo el agar cambia a color negro.

6.3.5.5 RESULTADOS

Reacción de peróxido de hidrogeno:
- Positiva: *Straphylococus sp*
- Negativa: *Streptococcus sp.*

Coloración Gram:
- Racimos: *Straphylococus sp.*
- Cadena: *Streptococcus* sp

Hemolisis:
- alfa: *S. pneumoniae* y *viridans*
- gama: *Enterococus*
- beta: *S. pyogenes*

Sensibilidad a la bacitracina:
- Positiva: *S. pyogenes.*
- Negativa: Posible *viridans* o *pneumoniae*.

Sensibilidad a optoquin:
- Sensible: *S. pneumoniae*.
- Resistente: *Viridans*.

Bilis esculina
- Agar negro: Positivo *Enterococcu*s
- Agar no cambia de color: Negativo otros *Streptococcus sp*

6.3.5.6 CAPACITACION AL PERSONAL

Tiene como objetivo mejorar la habilidad del personal en la manipulación de siembras y aislamiento como:

- Proporcionar capacitación continua.
- Enfocarse en técnicas de aislamiento para obtener colonias puras.
- Realizar una correcta toma de la muestra vitando contaminación con flora habitual.
- La siembra debe ser en Agar sangre de cordero para una mejor visualización de la hemolisis.
- Si el caso lo requiere realizar una resiembra de las colonias sospechosas de beta hemolisis.

6.4 IDENTIFICACIÓN CON EL EQUIPO AUTOMATIZADO VITEK 2

6.4.1 OBJETIVO:

Diseñar una propuesta de mejora en la identificación del *Streptococcus sp* utilizando el método automatizado en el laboratorio clínico Zamora.

6.4.2 ALCANCE

Esta propuesta tiene un alcance para los analistas del área de Microbiología Clínica del Laboratorio Clínico Automatizado "Zamora" y para cualquier laboratorio en general, se encuentra ubicado en las calles Luis A Martínez entre Bolívar y Rocafuerte.

6.4.3 UBICACIÓN

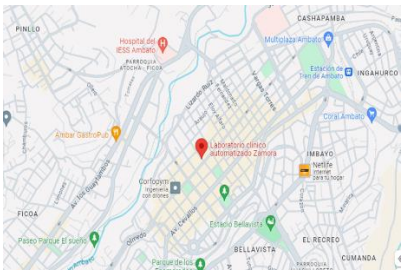


Figura 1. Ubicación geográfica del Laboratorio Zamora

6.4.4 RESPONSABLES

El cumplimiento del procedimiento adecuado para la identificación de *Streptococcus sp* es responsabilidad tanto del jefe del área de Microbiología Clínica como de los analistas que laboran en dicha área.

6.4.5 DEFINICIONES

- **Medio de transporte Stuart:** medio semisólido utilizado para la transportación y preservación de microorganismos.
- **Bajalenguas**: dispositivo médico no invasivo de madera y estéril (desechable).

- **Agar sangre con sangre de cordero al 5**%: Es un medio de cultivo no selectivo enriquecido para la recuperación y aislamiento de toda clase de microorganismos Gram-positivos, Gram-negativos y hongos.
- **La sangre de cordero** ayuda a la visualización de microorganismos que producen hemolisis (alfa, beta o gamma).
- **Asa de siembra**: Es un instrumento que sirve para transferir microorganismos de un medio a otro. Se usa para realizar siembras y aislamientos de bacterias y hongos en medios de cultivo.
- **Mechero Bunsen**: Produce una llama abierta y se utiliza en laboratorios de microbiología para esterilizar las asas previo a su uso este funciona con gas combustible.
- **Cámara de bioseguridad tipo II:** Proporcionan protección al personal y medio ambiente, en su interior proporciona esterilidad y reduce la posible carga de partículas producidas en el proceso.
- **Cámara para anaerobios:** son equipos herméticos, esta cámara tienen concentraciones de oxígeno entre 0 y 5 PPM.
- **Autoclavar:** Es un dispositivo que utiliza vapor de agua a alta presión y temperaturapara destruir y estelilizar todos los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y esporas, en materiales y equipos.
- **Microscopio:** instrumento que se utiliza para ampliar objetos pequeños.

6.4.6 MATERIALES Y EQUIPOS

- Hojas para registro
- Medios de Stuart
- Baja lenguas
- Equipo de protección
- Agar sangre de cordero
- Cámara para anaerobios
- Estufa a 37 grados centígrados
- Coloración Gram (cristal violeta, yodo, alcohol cetona, safranina)
- Agua oxigenada (peróxido de hidrogeno al 50%)
- Equipo automatizado Vitek 2 Compact
- Cámara de bioseguridad tipo II
- Prueba Gram positivas

- Solución salina 0.45,
- Cepas ATCC para Gram positivas.
- Pipetas automáticas.
- Puntas estériles
- Tubos estériles de 5ml
- Hisopos estériles
- Densitómetro

6.4.7 PROCEDIMIENTO

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DEL PACIENTE

Para la recolección de la información sobre el paciente tomar en cuenta lo siguiente:

- Mantener un buen diálogo con el paciente.
- Preguntar sobre: Síntomas actuales y tiempo de duración de los mismos
- No estar con tratamientos antes de la toma de la muestra
- El paciente recibirá una serie de instrucciones previa a la toma de la muestra que permitan obtener una muestra de calidad, para ello se le explicará que no debe cepillarse los dientes, no usar enjuague bucal, no haya ingerido alimentos

6.4.7.1 TOMA DE LA MUESTRA

Al paciente hacerle sentar con la espalda recta y la cabeza hacia atrás, y explicar que el proceso de toma de muestra tiene riesgos mínimos como náuseas o picazón en la faringe.

Hay que pedir que abra la boca se presionará la lengua hacia abajo con un baja lenguas, se frotará un hisopo estéril en la parte posterior de la garganta, alrededor de las amígdalas evitando la contaminación con flora bucal así evitar la contaminación cruzada. con el hisopo se realizar una placa para Gram y posteriormente se guarda en el Stuart.

6.4.7.2 SIEMBRA DE LA MUESTRA

Todo este proceso de siembra se realiza dentro de la Cámara de Bioseguridad tipo II para protección personal y una are estéril para del inocuo.

- Obtenida la muestra se realizar la siembra rápidamente para evitar la pérdida de viabilidad.
- Para el cultivo de *Streptococcus sp* se utiliza el agar sangre preferiblemente enriquecido con sangre de carnero al 5%
- Con el hisopo realizar inoculo haciendo girar en la parte superior de la placa del agar sangre.
- Se procede a realizar por agotamiento en tres direcciones para obtener colonias aisladas y puras.
- Posteriormente se coloca en una cámara para anaerobios y se lleva a la incubadora de 35 a 37° C durante 24 a 48 horas en caso de no presentar crecimiento
- Transcurrido el tiempo se procesará las colonias puras y no existe colonias puras se realizará una resiembra de colonias puras en agar sangre.

6.4.7.3 OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN

- Realizar la prueba de la catalasa para verificar si es un *Streptococcus sp* o *Staphylococcus sp* mediante el peróxido de hidrogeno.

- Observar al microscopio con el lente de 100x la coloración gram y ver si existe la presencia de cocos gram positivos en cadena o racimo.

- Observar las colonias decrecimiento para *Streptococcus sp* las cuales son blancas o grises, pueden estar rodeadas de beta, gama, alfa hemólisis.

6.4.7.4 MÉTODO AUTOMATIZADO

Para automatizar el proceso de identificación de agentes patógenos como el *Streptococcus sp* se requiere del uso de equipos como el sistema Vitek2 compact permitirá la identificación bacteriana con sus y la sensibilidad antimicrobiana por concentración Inhibitoria Minima (CIM) en menor tiempo que el método manual.

Con el aumento de **organismos multirresistentes** el laboratorio de microbiología juega un papel importante en la identificación microbiana (ID), y la prueba de susceptibilidad antibiótica (AST), son claves para respuestas clínicas con un mejor resultado para el paciente. Cuenta con la aplicación que es innovador y automatizado en el sistema de determinación de ID/AST microbiana sus resultados son rápidos y precisos con mayor seguridad y estandarización mejorada.

Características:

- VITEK 2 utiliza tarjetas individuales de ID y AST
- Las tarjetas son de bajo costo y listas para su uso
- Menú integral de pruebas
- La configuración sencilla para el uso diario
- Son cerrados y baja manipulación para evitar contaminación
- Trazabilidad con códigos de barras
- Interfaz entre equipo y sistema de laboratorio
- Resultados en 5 horas tanto identificación como sensibilidad
- Selecciona el tratamiento antibiótico adecuado para cada microorganismo
- Su validación es automática para cada resultado emitido
- Aporta en el perfil fenotípico de los mecanismos de resistencia a las bacterias.
- Actualizaciones en los puntos de corte de los antibióticos

6.4.7.5 PROCEDIMIENTO

- Verificar si se cuentan con los cartuchos necesarios para el análisis
- Utilizar el equipo de protección personal
- Dentro de la cámara de bio seguridad realizar los procedimientos para evitar la contaminación de la muestra y del personal.
- Sacar el cartucho del embalaje protector siguiendo las instrucciones descritas en la técnica por el fabricante.
- Verificar si el cartucho no tiene daños visibles y su fecha de caducidad.
- Codificar el cartucho con el código del paciente emitido por el sistema de laboratorio.

- En un tubo estéril dispensar 3 ml de solución salina con una pipeta automatiza y puntas nuevas.
- Con hisopos nuevos tomas de 3- 4 colonias puras del agar sangre.
- Ajustar la turbiedad al 0.50 - 0.63 en la escala de McFarland en el Densiómetro
- Luego colocar dentro de la gradilla respectiva
- Colocar la respectiva tarjeta para la identificación con la guía dentro de la suspensión.
- Las tarjetas de identificación son cerradas lo cual evita la contaminación
- Llevar al equipo Vitek para los pasos indicados por el fabricante como la lectura y codificación en el sistema del equipo.
- Posteriormente se da el sellado de las tarjetas en el pocillo de sellado
- Realizado el sellado y corte de las guías se coloca en el orificio de procesamiento.
- Se procede a colocar en el equipo para su procedimiento de identificación en un tiempo aproximado de 4-5 horas.

6.4.7.6 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados suelen estar disponibles en forma de informe impreso o en formato digital, dependiendo del sistema específico. Para los diferentes microorganismos el reporte es con género, especie y sub especie.

6.4.7.7 CONTROL DE CALIDAD

Mantenimiento, control de calidad y calibración de equipos:

- El personal de laboratorio responsable de esta área será el responsable de la limpieza y mantenimientos necesarios así también del control de calidad el cual debe ser de manera establecidos por el fabricante.
- Debe utilizar cepas ATCC.




0.61

REFERENCIAS:

López M, Gómez J, López J, Sanz N, Muñoz C, Regodón M. Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method. Rev Esp Quimioter. 2015; 28(5): p. 242-6.

Dunne E, Marshall J, Baker C, Manning J, Gonis G, Steer A. Detection of group a streptococcal pharyngitis by quantitative PCR. BMC Infect Dis. 2013; p. 312.

Moon H, Hwa S, Chung H, Lee M, Lee K. Performance of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. J Med Microbiol. 2013; 62(9): p. 1301-1306.

Castellanos M, Mejía M, Jiménez Y, Pichardo L, Franco M, Parra I. Identificación y susceptibilidad bacteriana utilizando equipo automatizado Vitek 2 XL en el laboratorio del Hospital Infantil de México. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2017; 64(1): p. 50-53.

Daza D. Técnicas para la identificación de *Streptococcus pyogenes* como agente causal de faringoamigdalitis. Tesis. Riobamba, Ecuador: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2022.

Spellerberg B, Brandt C. Laboratory Diagnosis of Streptococcus pyogenes (group A streptococci). NIH. 2016.

Firmado electrónicamente por:
VICTOR HERNAN GUANGASIG TOAPANTA

Bq.F. Mg. Víctor Hernán Guangasig Toapanta

C.C.: 180338438-5

TUTOR