

1984-2

Reg. No. 080359195

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



FRECUENCIA DE PORTACION DE *Staphylococcus aureus*
EN NEONATOS

BEATRIZ EUGENIA BORRAYO RODRIGUEZ

"Frecuencia de portación de
Staphylococcus aureus en
neonatos".

DIRECTOR DE TESIS :

DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES .

Agradezco al DR. HECTOR GOMEZ ESTRADA y a la U.I.B.O. del I.M.S.S. el haber me permitido realizar esta investigación.

Agradezco al DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES por la dirección de esta tesis.

De forma especial doy gracias a mis -
padres JOSE BORRAYO SIORDIA+ y MARIA_
RODRIGUEZ AGUIRRE, que hicieron posi-
ble mi realización académica.

Agradezco a todas las personas que de
una u otra forma permitieron el desa-
rrollo de este estudio.

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Bacteriología de la Sección de Patología Experimental de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente y en el Hospital de Ginecología del Centro Médico del Instituto Mexicano del Seguro Social, bajo la dirección del Dr. Sergio Aguilar Benavides y la asesoría del Dr. Héctor Gómez Estrada.

I N D I C E

| | <u>PAGINA</u> |
|-----------------------------------------|---------------|
| JUSTIFICACION | 1 |
| INTRODUCCION | 2 |
| ANTECEDENTES | 3 |
| OBJETIVO | 18 |
| MATERIAL Y METODOS | 19 |
| RESULTADOS | 23 |
| DISCUSION | 30 |
| CONCLUSIONES | 33 |
| BIBLIOGRAFIA | 35 |
| MATERIAL ANEXO | 37 |
| CARTA ACEPTACION DEL TEMA | 39 |
| CARTA DEL Vo. Bo. DEL DIRECTOR DE TESIS | 40 |

JUSTIFICACION

Consideramos importante realizar esta investigación, por el -- desconocimiento que se tiene de la frecuencia en que Staphylo-
coccus coloniza las vías aéreas superiores (faringe) de los ni-
ños recién nacidos y para determinar si esto ocurre desde el -
momento del nacimiento o durante el transcurso de la estancia
del niño en el hospital.

Los datos obtenidos de este estudio servirán a los hospitales_
para que se tomen medidas profilácticas adecuadas.

INTRODUCCION

El presente estudio tiene como objetivo principal, investigar la frecuencia de portación de Staphylococcus aureus en niños recién nacidos, en el Hospital de Ginecología del Centro Médico de Occidente, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Además de conocer el tiempo en el que éste se adquiere.

Para llevar a cabo lo anterior se seleccionaron 100 niños recién nacidos, diagnosticados clínicamente sanos, a los cuales se les tomaron dos muestras de exudado faríngeo, con una diferencia máxima de 5 días entre una y otra muestra.

La investigación se realizó en el laboratorio de bacteriología de la sección de patología experimental de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS.

Los antecedentes indican de una manera muy general los avances de las investigaciones realizadas por varios científicos sobre Staphylococcus. Se da énfasis en S. aureus, su morfología, metabolismo, bioquímica, estructura antigénica y patogenicidad.

Han sido pocos los estudios que se han hecho sobre este tema, por lo que se pretende conocer mediante resultados directos, - datos que sirvan en los hospitales para tomar medidas preventivas en caso de que el índice de portación de Staphylococcus aureus sea elevado.

En material y métodos se describen de manera detallada, los -- procedimientos de laboratorio que se siguieron, el material -- utilizado, la forma en que se realizaron los muestreos y su --

análisis en el cual el principal medio de cultivo fue el empleo de placas de agar-sangre, se indica también la manera en que se realizó el control de los datos.

En los resultados se interpretan los datos obtenidos en el laboratorio en especial de S. aureus, asimismo se determina la frecuencia en que otras especies de Staphylococcus se presentaron, además de indicar si en las placas de agar-sangre hubo o no crecimiento y si se desarrollaron otros tipos de microorganismos. Estos datos son discutidos y se concluye sobre el S. aureus y las medidas que se consideran deben ser tomadas en cuenta.

ANTECEDENTES

El nombre Staphylococcus deriva del griego stapylé (racimo) y kokkos (grano) (16).

Roberto Koch, descubrió en 1878, en el pus de abscesos humanos, organismos agrupados en forma de racimos que más tarde se clasificarían como Staphylococcus. Dos años después, Luis Pasteur logró cultivarlo en medio líquido. En 1881, Ogston demostró que Staphylococcus era patógeno para el ratón y el cobayo. Rosenbach describió en 1884 dos especies de Staphylococcus: -- Staphylococcus (pyogenes) aureus y Staphylococcus (pyogenes) albus o epidermidis (4).

El interés por Staphylococcus como germen patógeno para el hombre se vió estimulado en 1928 a causa de la muerte de 21 niños inculados con antitoxina diftérica; Dack demostró que la muerte fue provocada por las toxinas generadas por Staphylococcus que creció en el mismo medio de cultivo (4)

Clasificación Taxonómica:

Según Dulbecco (4) la clasificación taxonómica de Staphylococcus es la siguiente:

| | |
|----------|----------------|
| Reino: | Monera |
| Clase: | Microtatiobios |
| Orden: | Eubacterias |
| Familia: | Micrococcaceae |

Género: Staphylococcus
Especie: S. aureus
S. epidermidis
S. saprophyticus

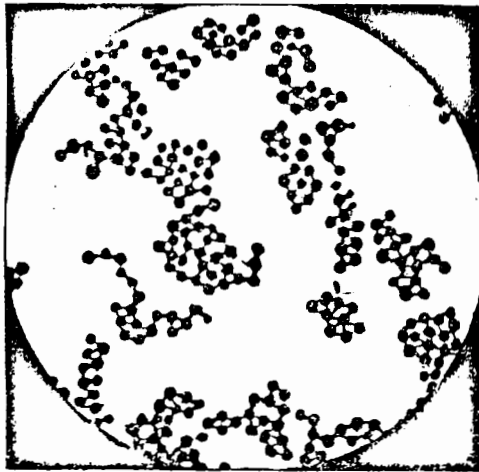
Morfología:

Staphylococcus es una bacteria esférica Gram-positiva - que mide de 0.7 a 1.2 μm . de diámetro; las células viejas pueden ser Gram-negativas con la tinción.

Los microorganismos se presentan en masas semejantes a racimos de uvas, como se observa en la Fig. 1., en pares o en cadenas cortas. Normalmente se desarrollan en medios sólidos, da un color dorado o amarillo y en algunas cepas, incoloro (7, 8, 16).

Fig. 1.

Microfotografía de Staphylococcus aureus
(según J. Nowak)



FUENTE: Frazier, W.C., Microbiología de los Alimentos.
Ed. Acribia, Zaragoza, España.

El citoplasma contiene ribosomas, donde se realiza la síntesis de proteínas e inclusiones o gránulos de alimentos de reserva; el nucleóide tiene ácido desoxirribonucleico (DNA) en forma circular sin histomas y representa del 2% al 3% del peso seco de la bacteria. El contenido de guanina más citocina en el DNA es del 30.7% al 39% (4, 7).

Metabolismo :

Staphylococcus sobrevive en variadas condiciones ecológicas; puede subsistir a una temperatura mínima de 4°C y una máxima de 66°C. La temperatura más favorable para el crecimiento oscila en el rango de 20°C a 37°C y la máxima alcanza los 47°C. La bacteria resiste la temperatura de 4°C por varios meses en la superficie de placas de agar (4, 7, 8, 16).

La resistencia al calor de un millón de estafilococos por mililitro o gramo de alimento puede inactivarse por la aplicación de una temperatura de 66°C durante 12 minutos por lo menos, o por 60°C durante 78 a 86 minutos (5).

Acción del agua. Existen pruebas de que Staphylococcus aureus es más resistente a la irradiación en estado seco, Bellamy y Lawton (1954) demostraron que la pérdida de agua por congelación tiene posiblemente el mismo efecto, ya que es menos sensible en estado congelado (5).

Tolera variaciones de pH de 4.8 a 9.3. El pH mínimo de crecimiento en condiciones aerobias es de 4.8 y de 5.5 en condiciones anaerobias (5, 11).

Staphylococcus resiste los desinfectantes como el cloruro de mercurio y fenoles y en ocasiones tolera los nitritos y los azúcares disueltos relativamente bien (4).

Una cepa de Staphylococcus aureus estudiada por Stiles y Witter (1965), al calentarla en soluciones de cloruro sódico de concentraciones crecientes, comprendidas entre 1 y 15%, mostró una clara reducción de su termorresistencia. Se comprobó que ello se debía a un aumento de la sensibilidad de este germen frente al cloruro sódico a consecuencia de la acción del calor (5).

A temperatura ambiente, en condiciones de buena aireación Staphylococcus elabora pigmentos dorados, blancos y amarillos. S. aureus produce un pigmento amarillo dorado, compuesto por caroteno y sarcinoxantinas (7).

Crece en diferentes medios de cultivos: agar-soya triplicada, en agar-sangre, caldo de carne peptonado y en forma selectiva en agar-salado (medio 110). En caldo de carne peptonado Staphylococcus produce un enturbiamiento difuso que se convierte en precipitado. En agar-sangre produce hemólisis, siendo los eritrocitos de conejo y carnero los más sensibles a la acción de la hemotoxina estafilocócica (7).

Bioquímica:

Staphylococcus elabora enzimas proteolíticas y sacaro-

líticas produce ureasa, catalasa, segrega ácido sulfhídrico, fermenta glucosa y diversos carbohidratos, sintetiza más de 25 enzimas de patogenicidad entre las que se encuentran:

- Exotoxinas

Hemolisina (alfa) actúa sobre eritrocitos de conejo y lesiona las plaquetas. Produce contracciones espasmódicas de la musculatura lisa.

Hemolisina (beta), esfingomielinasa que destruye los eritrocitos de carnero.

Hemolisina (delta), fosfolipasa tóxica para los leucocitos y otras células.

Hemolisina (gama) posee menor potencia que las demás, no ha sido aún caracterizada (4).

- Enterotoxinas

La intoxicación alimenticia que con más frecuencia se presenta es la producida por la ingestión de la enterotoxina producida cuando crecen en el alimento ciertas estirpes de Staphylococcus aureus. A la toxina se le denomina enterotoxina por causar gastroenteritis o inflamación de las mucosas gástrica e intestinal (5).

Staphylococcus puede producir cuatro tipos serológicos de enterotoxinas: A, B, C y D que difieren en su toxicidad. La mayor parte de las intoxicaciones son por toxina de tipo A (5, 15).

Las estirpes productoras de toxina de Staphylococcus aureus, forman, además, otras toxinas. Las condiciones que permiten el crecimiento de la bacteria y por tanto de la producción toxina varían con el tipo de alimento. Por lo general, cuanto mejor medio de cultivo sea un alimento, más amplio será el margen de temperatura y pH en el que pueden crecer las bacterias (5).

La enterotoxina sólo se produce en cantidades considerables cuando Staphylococcus crece en gran número. Para ello, se necesitan varios millones por mililitro o gramo.

Dicha toxina, la producen a un ritmo considerable cuando la temperatura se halla entre 15.6°C y 46.1°C. En condiciones adecuadas la toxina se pone de manifiesto entre 4 y 6 horas. Cuanto menor sea la temperatura a que se produce, tanto mayor es el tiempo necesario para producir una cantidad de toxina suficiente para causar la intoxicación.

En un buen medio de cultivo se ha demostrado la producción de enterotoxina en 3 días a 18°C y en 12 horas a 37°C, 7 días a una temperatura de 9°C ó 4 semanas de 4°C a 6.7°C; su producción es más favorable cuando no hay microorganismos competidores, o cuando éstos son escasos o se hallan por alguna razón inhibidos.

La cantidad de enterotoxina producida se halla influida por el tipo de alimento. Las proteínas y el almidón en abundancia parecen estimular la producción de toxina (5).

La enterotoxina es considerablemente termoestable; resiste la ebullición durante 20 a 60 minutos e inclusive el tratamiento en autoclave, aunque va gradualmente disminuyendo su potencia al someterse a este proceso (4).

- Leucocidinas

Destruyen los leucocitos, matan los hematoblastos de la médula osea y a las células nerviosas (4).

- Coagulasa

Enzima que coagula el plasma citratado u oxalatado. Este carácter es relativamente estable y se utiliza para diferenciar las especies de Staphylococcus patógenas de las no patógenas. Según Niven, todos los Staphylococcus aureus productores de enterotoxinas son coagulasa positivos y aerobios facultativos en un medio glucosado complejo, sin que esto quiera decir que todos los que sean coagulasa positivos sean necesariamente toxigénicos (7).

La coagulasa se sintetiza en los primeros cinco minutos de crecimiento en medio de cultivo (9).

- Fibrinolisisina

Al añadirse al coágulo sanguíneo provoca su disolución en 1 ó en 2 días. También elabora la enzima hialuronidasa que destruye al ácido hialurónico(4).

Muchas cepas de Staphylococcus producen penicilinasa (β -lactamasa) que destruye las penicilinas, también pueden ser resistentes a la tetraciclina, eritromicina,

lincomicina, rifampicina, clorafenicol, neomicina, kanamicina, clindamicina, oxalacina y gentamicina (3,4,6,8,13,15).

Estructura Antigénica:

En cultivos de Staphylococcus se han obtenido polisacáridos A y B. El polisacárido A extraído de una cepa patógena Staphylococcus aureus y polisacárido B extraído de una cepa Staphylococcus epidermidis.

La especificidad inmunológica de Staphylococcus aureus viene dada por antígenos polisacáridos que contienen fósforo.

Proteína A.- La mayoría de las cepas de Staphylococcus aureus poseen proteína A componente de superficie, esta proteína tiene la propiedad de reaccionar con los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas del suero de mamíferos. Se ha demostrado que esta proteína posee propiedades antifagocíticas (1).

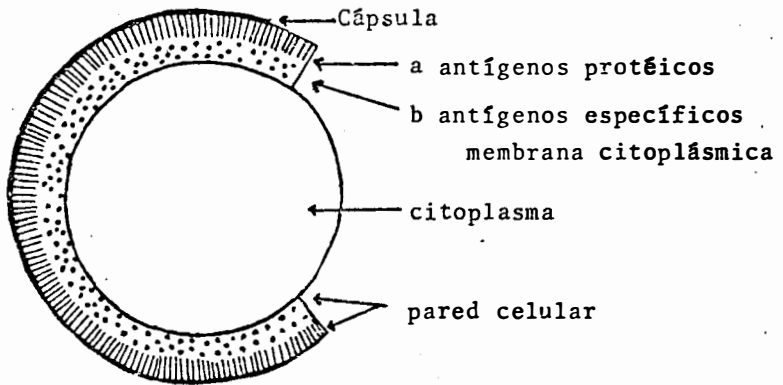
Antígenos Capsulares.- Dos antígenos capsulares producidos por las cepas mucoides de Staphylococcus aureus han sido caracterizados. Estos antígenos poseen propiedades antifagocíticas cuando se hallan en la superficie del organismo, mientras que en solución, bloquea las propiedades aglutinantes y opsonizantes de los anticuerpos anticapsulares (4).

Otros Antígenos.- Además de las coagulinas libres que provoca la coagulación del plasma, Staphylococcus aureus forma también coagulasa ligada o factores de aglutinación que provocan la conglutinación de los microorganismos cuando se incuban en plasma o suero (7, 14).

Estas bacterias son inmóviles, unicelulares, no forman esporas son quimiorganotróficas, anaerobias facultativas, fermentativas y proteolíticas pero no producen olores desagradables (4, 5).

Como lo muestra la Fig. 2., Staphylococcus presenta una membrana plasmática con estructura trilaminar, característica que rodea al citoplasma. En torno de la estructura, se encuentra una rígida y gruesa pared bacteriana formada por un peptidoglucano, ácido teicoico y Proteína A, por fuera de la pared algunos Staphylococcus presentan una cápsula que se considera como factor de virulencia (7).

Fig. 2.
Estructura Antigénica de Staphylococcus



a/ Antígenos protéicos por la pared celular.

b/ Sitio de inserción del bacteriófago.

FUENTE: Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A., Manual de Microbiología Médica. Ed. El Manual Moderno, S.A. México, 183 (1981).

Patogenicidad:

Staphylococcus habita generalmente en el epitelio respiratorio y forma parte de la flora normal del humano.

Nahmias y Eickhoff clasifican los portadores nasales de Staphylococcus aureus como sigue: (14, 15).

- a) Portadores Persistentes o Crónicos.- Portan las mismas cepas de Staphylococcus por un gran tiempo; del 15% al 35% lo poseen.
- b) Portadores Intermitentes.- Del 15 al 50% son aquellos que portan una cepa de Staphylococcus aureus por un período largo, esta cepa desaparece y nuevamente vuelve a colonizar las vías nasales del hombre.
- c) Portadores Ocasionales.- 15-50% portan Staphylococcus aureus sólo esporádicamente.
- d) No Portadores Verdaderos.- 15-25% que nunca o muy raramente portan Staphylococcus.

El hombre posee un alto grado de resistencia contra ----
S. aureus por mecanismos fagocíticos y por anticuerpos -
sericos.

Las enfermedades provocadas por S. aureus se clasifican -
en:

- Infecciones localizadas
- Infecciones generalizadas que se diseminan por vía linfática o sanguínea.
- Intoxicación alimenticia (7).

La patogenicidad de una cepa de Staphylococcus es el resultante de factores y toxinas extracelulares.

La susceptibilidad a las infecciones por Staphylococcus aureus aumenta cuando la resistencia del organismo disminuye debido a deficiencias dietéticas, traumas accidentales y quirúrgicos, lesiones en la piel, cáncer, cirrosis hepática, quemaduras, por acción de endotoxinas bacterianas y reacciones anafilácticas (7, 16).

Lo característico de las infecciones por Staphylococcus aureus son la infiltración leucocitaria, necrosis y supuración (7).

En los alimentos contaminados con Staphylococcus aureus, se producen enterotoxinas que al ser consumidas por el hombre producen intoxicación alimenticia, los síntomas que se presentan son leves o intensos, puede haber salivación, náuseas, vómitos, espasmos abdominales de diversa intensidad, diarrea en ocasiones sanguinolenta, dolor de cabeza, calambres musculares, escalofríos, pulso débil, respiración superficial y shock. El período de incubación desde el consumo del alimento y la aparición de síntomas suele ser entre 2 y 3 horas, aunque oscila de 1 a 6 horas, la recuperación es fácil y total en 1 ó 2 días (5).

Noble en 1971, realizó investigaciones sobre Staphylococcus aureus y concluyó que las vías nasales se encuentran con mayor frecuencia colonizadas por Staphylococcus aureus; de 20% a 70% de individuos hospitalizados y no hospitalizados independientemente de la edad, lo poseen.

La piel, el perineo y el pelo son portadores de Staphylococcus aureus, la dispersión de estos puede ocurrir durante el lavado de manos, paradójicamente aumenta en número, ya que las bacterias son removidas y aquellas que permanecen en la superficie de la piel tienen mayor espacio para su crecimiento.

La contaminación de Staphylococcus aureus en los hospitales se ha notado que ocurre principalmente por el medio ambiente, ya que las partículas de aire varían de 4 a 25 μ m el diámetro medio de las partículas de Staphylococcus aureus es de 4 micro metros. La diseminación de estas bacterias es en todas las áreas del hospital en el equipo y artículos de uso común dentro del hospital, tales como equipo anestésico, jabón, uniformes del personal médico y paramédico y en el piso (Nahmias y Eickoff. 1961).

Ramelkamp refiere que el modo más importante de transmisión de Staphylococcus aureus es directamente por las manos, piel, y gotas de saliva.

Staphylococcus aureus contiene los mecanismos bioquímicos que lo habilitan para colonizar e invadir las mucosas y la piel y protegerse de las defensas del huésped (14, 15).

Dentro de las enfermedades con que se asocia Staphylococcus aureus están: enteritis estafilocócica, dermatitis atópica, síndrome del shock tóxico, síndrome de la piel escaldada, gastroenteritis, endocarditis, infecciones por operaciones quirúrgicas del ombligo de los recién nacidos, acné, impétigo, osteomielitis, neumonía, meningitis, empiema y formación de abscesos en cualquier órgano (4,6, 14,16).

Factores que deben considerarse para la virulencia de --
Staphylococcus aureus:

- a) Componentes antifagocitarios de superficie, que pueden o no formar una cápsula visible.
- b) Capacidad para sobrevivir a la fagocitosis
- c) Producción de toxina α , puede ocasionar necrosis, interfiere en la inflamación y lesiona los leucocitos.
- d) Elaboración de leucocidinas
- e) La aparición de hipersensibilidad retardada, que incrementa la necrosis hística y aumenta la sensibilidad del huésped a la infección (7).

Medidas Preventivas:

La contaminación puede reducirse o evitarse por medio de - procedimientos higiénicos adecuados, por el control del personal del hospital que tenga lesiones contaminadas con - Staphylococcus aureus, y evitar que estén en contacto con - personas hospitalizadas (Nahmias y Eickoff. 1961). (14, 15).

La aplicación de antisépticos en la piel, disminuye la colonización de Staphylococcus aureus. El crecimiento de Staphylococcus aureus en los alimentos puede detenerse mediante una refrigeración adecuada y en algunos casos acentuando la acidez (5,6).

Tratamiento :

En las infecciones localizadas por Staphylococcus aureus es básico el drenaje de la parte afectada. Para seleccionar el antibiótico adecuado es necesario efectuar --- pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos; la novomicina y la eritromicina son eficaces pero el organismo de sarrolla resistencia a los 7 ó 10 días de tratamicto. Se ha sugerido la adición, a algunos alimentos de un bacteriostático como la serina, o un antibiótico (5,7,14,16).

Dado que Staphylococcus aureus puede adquirir una resistencia activa se ha promovido el empleo de toxoide, esta filococico en personas que sufren infecciones cutáneas re currentes (11).

OBJETIVO

Objetivos Generales :

Investigar la frecuencia de portación de Staphylococcus aureus en neonatos.

Investigar que tan tempranamente Staphylococcus aureus coloniza las vías aéreas superiores (faringe) de los recién nacidos.

Comparar la frecuencia de portación de Staphylococcus aureus con Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus saprophyticus.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS

MATERIAL Y METODOS

En el Hospital de Ginecobstetricia del Centro Médico de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social, se tomaron muestras de exudado faríngeo a 100 niños recién nacidos, maduros y sanos.

A cada niño se le practicaron dos muestras. La primera se efectuó en la Sección de Tococirugía en las primeras 8 horas de nacimiento; la segunda muestra se tomó el día en que el niño egresó de la Sección de Cuneros, que fue del 2° al 5° día dependiendo del tipo de parto.

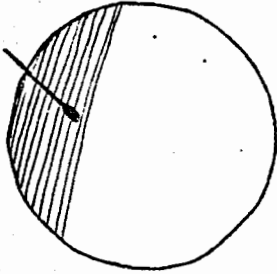
En los 100 casos se aplicó la cédula en que se registran datos clínicos del niño y de la madre. (Anexo 1).

El listado del material se detalla en el Anexo 2, el material usado fue manejado en forma aséptica y se etiquetó debidamente para evitar confusiones en la secuencia de los muestreos.

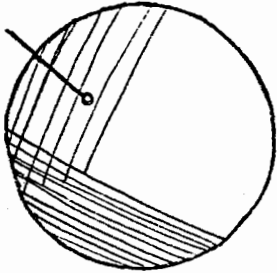
La muestra se tomó con un hisopo estéril de exudado faríngeo, el hisopo se trasladó al laboratorio en un tubo con 5 ml. de caldo cerebro-corazón, el que se incubó durante una hora a 24°C, después de lo cual se agitó, se tomó el hisopo y se sembró en una caja Petri con agar---sangre. Con una asa estéril se hicieron estriaciones pasando por la zona inoculada.

La caja Petri se colocó invertida y se incubó a 37°C durante 24 horas (Fig. 3).

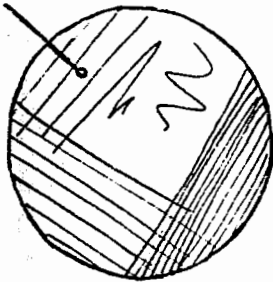
Fig. 3
SIEMBRA EN PLACAS CON AGAR-SANGRE



Inoculación o siembra con hisopo



Extensión del inóculo con asa estéril



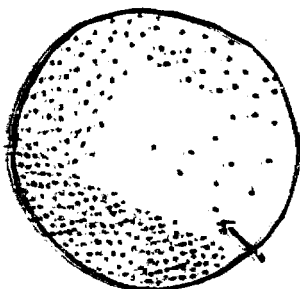
Estriación con asa estéril

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS

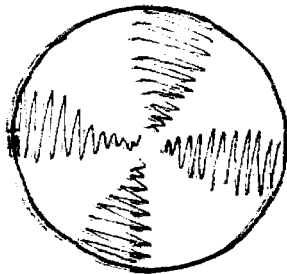
Del crecimiento bacteriano de las placas se seleccionan aquellas colonias que no se encontraban confluentes y fueron diferentes en color y características morfológicas. Se transfirieron a otra caja Petri con agar-sangre, con punta de alambre, se sembraron en forma zonal por estriación, se evitó que se tocaran una y otra estriación. La caja Petri se incubó a 37°C durante 24 horas en posición invertida (Fig. 4)

Fig. 4

SIEMBRA EN PLACAS CON AGAR-SANGRE



Selección de la colonia aislada con una asa esterilizada.



Siembra zonal.

LIBRERIA DE LA ENTIDAD FEDERAL DE MEXICO

Del crecimiento zonal de cada colonia se prepararon Frotis que se fijaron y tiñeron por el método de Gram, se observaron al microscopio y se descartaron los cocos -- gram-negativos (2).

A las colonias de cocos gram-positivos se les practicaron las siguientes pruebas bioquímicas:

1. Agar-glucosa; con una asa de inoculación se tomó una muestra de cada colonia, se sembró por estrías en un tubo con 3 ml. de agar-glucosa inclinado y se incubó durante 24 horas a 37°C.
2. Manitol; con una asa de inoculación se tomó una muestra de cada colonia, se depositó en un tubo con 3 ml. de manitol, se incubó durante 24 horas a 37°C.
3. Coagulasa; se depositaron en tubos con 3 ml. de caldo cerebro-corazón inóculos de bacterias de cada colonia, se incubó por 3 horas a 37°C. Con una pipeta estéril se extrajeron 0.5 ml. de este caldo, se depositaron en un tubo estéril, al que se agregó 0.5 ml. de plasma citratado diluido 1:4, se incubó 4 horas a 37°C y se observaban cada hora.

Para almacenar las cepas de Staphylococcus aureus, se depositó un inóculo en tubos con 3 ml. de caldo cerebro-corazón, se incubó por 3 horas, se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto. El sobrenadante se desechó, al sedimento se le agregó 1 ml. de caldo cerebro-corazón y 1 ml. de glicerol estéril y se congeló para su conservación a menos 2° C.

RESULTADOS

Para identificar las distintas especies de Staphylococcus se tomaron en cuenta los resultados de las pruebas bioquímicas siguientes:

| | <u>Coagulasa</u> | <u>Manitol</u> | <u>Aga-Glucosa</u> |
|-------------------------------------|------------------|----------------|--------------------|
| <u>Staphylococcus aureus</u> | + | + | + |
| <u>Staphylococcus epidermidis</u> | - | + | + |
| <u>Staphylococcus saprophyticus</u> | - | - | +/- |
| <u>Micrococcus</u> | - | +/- | - |

Ya que Micrococcus es gram-positivo es necesario diferenciarlo de Staphylococcus por medio de la prueba agar-glucosa; Micrococcus resulta negativo en la prueba de fermentación de la glucosa. Por su parte Staphylococcus saprophyticus aún cuando fermenta débilmente la glucosa puede diferenciarse fácilmente.

La coagulasa es la única prueba que señala claramente las bacterias Staphylococcus aureus ya que es el único que produce esta enzima.

A simple vista el crecimiento de las colonias es muy semejante, las colonias son circulares y lisas. El Staphylococcus aureus produce un pigmento que varía del blanco -- amarillento a amarillo dorado y en placas de agar-sangre provoca hemólisis, Staphylococcus saprophyticus y Staphylococcus epidermidis no producen hemólisis y el pigmento suele ser blanco aporcelanado.

El Cuadro 1 contiene los resultados obtenidos de los muestreos de exudado faríngeo en los 100 neonatos.

PRIMER MUESTREO

SEGUNDO MUESTREO

| | Staphylococcus | | Otros Microorg. | | Staphylococcus | | | Otros Microorganismos. | |
|---|----------------|---------------------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------------------|--------|------------------------|--|
| | aureus | saprophyticus. epidermis. | otros* | sin crecimiento | aureus | saprophyticus. epidermis. | otros* | sin crecimiento. | |
| X | X | | | | X | | | X | |
| X | | | | | X | X | | | |
| | X | X | | | | | | X | |
| | | | | X | | | | X | |
| | | | | X | | | | X | |
| X | | X | | | | | | X | |
| X | | | | | X | | | | |
| | X | X | X | | X | X | | | |
| | | X | X | | | | X | | |
| | X | | | X | X | | | | |
| | X | | | X | | | | X | |
| X | | | | | X | | | X | |
| X | | X | | | X | | | | |
| X | | | | | X | | | | |
| X | | | | | | | X | X | |
| | | X | X | | | | | | |
| | | X | | | | | | | |
| | X | | | | | X | | | |
| | | | | X | | | | | |
| | | | | X | | | | | |
| | | | | X | | | | | |
| X | | | | | X | | | | |
| X | | | | | X | | | X | |
| X | | | | | X | | | X | |
| X | | | | | | | X | | |
| X | | | | | | | X | | |
| | X | | | | X | X | | | |
| X | | | | | | | X | X | |
| X | | | | | | | X | | |
| X | | | | | | | X | | |
| X | X | | | | | | | | |
| | | X | | | | | | | |
| | | X | | | | | | | |
| X | X | | | | | | | | |
| | | X | | | | | | | |

En la TABLA 1 se observa que las 3 especies de Staphylococcus estuvieron presentes en los casos muestreados, un 19% de los niños fue positivo a S. aureus en la primera toma; mientras un 31% lo fue en la segunda. La primera muestra fue tomada en las primeras 8 hrs. de nacidos.

TABLA 1
PORCENTAJE DE PORTACION DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE --
Staphylococcus EN LA PRIMERA MUESTRA

| Espece | % de Portadores |
|--------------------------|-----------------|
| <u>S. aureus</u> | 19 |
| <u>S. saprophyticcus</u> | 29 |
| <u>S. epidermidis</u> | 28 |
| Otros | 12 |

La primera y segunda muestra fueron tomadas de exudado - faríngeo de niños recién nacidos, las muestras se sembraron en agar-sangre por estriación y se incubaron a 37°C durante 24 hrs. en posición invertida.

S. saprophyticcus y S. epidermidis se encontraron en porcentajes del 29 y 28% respectivamente.

En el segundo muestreo el porcentaje de portadores de -- Staphylococcus aumentó (TABLA 2), ; S. aureus se incrementó de 19% a 31%, mientras que S. saprophyticcus y S. epidermidis pasaron de 29% y 28% a 51% y 32%, respectivamente.

TABLA 2

PORCENTAJE DE PORTACION DE LAS DIFERENTES ESPECIES
EN LA SEGUNDA MUESTRA

| Especie | No. de Portadores |
|-------------------------|-------------------|
| <u>S. aureus</u> | 31 |
| <u>S. saprophyticus</u> | 51 |
| <u>S. epidermidis</u> | 32 |
| Otros | 22 |

Tanto en el primero como en el segundo muestreo se encontraron neonatos contaminados en una o más especies, razón por la cual en la TABLA 2 se rebasa el 100%.

Se encontró que en el primer muestreo en 33% de las muestras no se desarrolló ningún microorganismo, pero en la segunda muestra la totalidad de los casos presentó crecimiento.

De los 100 casos estudiados podemos establecer una relación entre asociaciones de los microorganismos involucrados en este estudio (TABLA 3).

Es difícil que ocurra una asociación entre las 3 especies de Staphylococcus presentes en el tracto respiratorio 0% en la primera encuesta y 1% en la segunda muestra.

S. aureus creció en el medio, libre de otros organismos en 14 niños en el primer muestreo y 16 en la segunda muestra mientras que S. epidermidis lo hacía en 14 y 18 neonatos respectivamente. S. saprophyticus se desarrolló sin la presencia de otras especies en un 19 y 32%.

TABLA 3
 PORCENTAJE DE ASOCIACIONES DE LAS ESPECIES DE
 MICROORGANISMOS POR PLACA

| | Primera Muestra | Segunda Muestra |
|---------------------|-----------------|-----------------|
| No hubo crecimiento | 33 | 0 |
| S. aureus | | |
| S. epidermidis | 0 | 1 |
| S. saprophyticus | | |
| S. aureus | | |
| S. saprophyticus | 1 | 1 |
| Otros* | | |
| S. epidermidis | | |
| S. saprophyticus | 1 | 0 |
| Otros* | | |
| S. aureus | | |
| S. epidermidis | 0 | 3 |
| Otros* | | |
| S. aureus | | |
| S. epidermidis | 1 | 5 |
| S. aureus | | |
| S. saprophyticus | 2 | 3 |
| S. epidermidis | | |
| S. saprophyticus | 5 | 3 |
| S. aureus | | |
| Otros* | 1 | 2 |
| S. epidermidis | | |
| Otros* | 7 | 2 |
| S. saprophyticus | | |
| Otros* | 1 | 11 |
| S. aureus | 14 | 16 |
| S. epidermidis | 14 | 18 |
| S. saprophyticus | 19 | 32 |
| Otros* | 1 | 3 |
| T O T A L | 100 muestras | 100 muestras |

* Levaduras, hongos, cocos gram negativos, bacilos identificados por observación microscópica.

Un 12% de los niños demostró pertenecer al grupo de portadores ocasionales (TABLA 4), es decir aquellos individuos que en la primera muestra presentan S. aureus pero en la segunda muestra lo erradican de su organismo, la forma en que esto sucede se desconoce.

TABLA 4

FRECUENCIA DE PORTADORES OCASIONALES DE S. aureus

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| % de portadores (primera muestra) | 19 |
| % de portadores nuevos (segunda muestra) | 24 |
| % total de portadores (segunda muestra) | 31 |
| % de portadores ocasionales (entre la primera y segunda muestra) | 12 |
| % de portadores intermitentes o persistentes (entre la primera y segunda muestra) | 7 |

En los 100 casos analizados, un total de 14 niños nacieron por cesárea. En la primera muestra se observó que un 2% de los recién nacidos eran portadores de S. aureus, mientras que en el segundo muestreo esta cifra se elevó al 5%.

Como se observa en la TABLA 5, tanto en los niños como en las niñas se encontró S. aureus, aunque en mayor proporción en estas últimas en el 1er. muestreo.

TABLA 5

RELACION DE PORTADORES DE Staphylococcus aureus CON EL SEXO

| | | Primera muestra | Segunda muestra |
|-------|------|-----------------|-----------------|
| Niños | (52) | 6 | 15 |
| Niñas | (48) | 13 | 16 |
| | | 19 | 31 |

DISCUSION

Una temprana colonización de las vías nasofaríngeas es llevada a cabo por Staphylococcus, dentro de las primeras 8 horas de nacimiento, un alto porcentaje (19%) resultó coagulasa positiva, en el segundo muestreo que varió del segundo al quinto día, el 31% se vuelven portadores.

Catorce cesáreas se presentaron, de las cuales en dos de ellas se encontró S. aureus en la primera muestra y cinco casos en la segunda, que fue en todos al quinto día de nacimiento. Esto descarta la posibilidad de que los niños se hayan contaminado al paso por la vagina de la madre.

S. saprophyticus y S. epidermidis tuvieron mayor frecuencia (29 y 28% respectivamente) en comparación con S. aureus (19%) esto demostró que estas bacterias colonizan más rápidamente el tracto respiratorio formando parte de la flora normal microbiana del hombre.

Una directa relación existe entre el tiempo de estancia de los neonatos en el hospital y el incremento en el porcentaje de portación. (TABLA 2) .

(TABLA 3) En el primer muestreo un 33% de los casos estudiados no mostró crecimiento en las cajas de cultivo, después de cinco días de nacidos la totalidad de los neonatos presentó Staphylococcus u otros microorganismos. Esto demuestra que el tracto respiratorio es invadido simultáneamente por diferentes especies de organismos que esta

blecen asociaciones simbióticas, en las cuales un aumento en número de cualquiera de ellas crea un desbalance ecológico trayendo como consecuencia el establecimiento de enfermedades respiratorias.

La asociación de las 3 especies de Staphylococcus fue un evento menos frecuente probablemente por la competencia - que existe entre estos, y/o por diferencias en la velocidad de colonización.

No se sabe si existen mecanismos que den una mayor selectividad a algunas de las especies para que se establezca y se adopten más rápidamente en las vías orofaríngeas.

Es claro que hubo mayor preferencia de Staphylococcus por crecer en cultivos sin la presencia de ningún otro organismo (TABLA 3) S. aureus se encontró en forma aislada en 16 casos mientras S. saprophyticus y S. epidermidis se encontraron en 32 y 18 muestreos en la segunda toma.

Creemos que el establecimiento de este tipo de asociaciones es importante para que ocurra o no infección estafilocócica y una disminución en el número de los demás microorganismos traería como consecuencia un incremento de Staphylococcus aureus ya que habría menor competencia.

Esto podría ocurrir frecuentemente por el uso de antibióticos para controlar infecciones en las vías orofaríngeas mismos que producen una notable disminución en la flora normal, y generalmente no surten efecto sobre S. aureus -

pues este crea resistencia contra varios de estos anti-bióticos.

Se detectaron niños que pertenecen al grupo de portadores ocasionales (TABLA 4) un 12% contrajo Staphylococcus en las primeras 8 horas de nacidos, en la segunda muestra -- fueron negativos a la prueba coagulasa, quizá estos niños crearon resistencia a Staphylococcus aureus además de que -- varios factores pueden estar involucrados con ellos.

Por otro lado no se detectó una clara relación entre la -- susceptibilidad a la colonización de Staphylococcus y el -- sexo, estos resultados no corroboran a los estudios de -- Nahmias y Eickoff en los cuales se afirma que existe una -- marcada preferencia de S. aureus por neonatos del sexo -- masculino. En esta investigación se nota que no hay pre- -- ferencia de S. aureus por el sexo como se observa en la -- (TABLA 5).

CONCLUSIONES

La presente investigación permite afirmar que el hombre se vuelve portador de Staphylococcus aureus en el período neonatal inmediato, ya que en los primeros cinco días un 31% de la población muestreada lo portan, y que Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus saprophyticus son adquiridos conforme el niño está en contacto con el medio ambiente.

La contaminación por S. aureus en la sección de tococirugía y cuneros es muy seria, esto pone en evidencia las medidas higiénicas de control del material y equipo y personal con que se manipula a los niños. Tomando en cuenta que S. aureus es una bacteria sumamente versátil, ubicua y se disemina por partículas de aire y por portadores sanos, además de la ropa y equipo de trabajo contaminado por estas bacterias (Nahmias y Eickoff), este problema se vuelve difícil de controlar en su totalidad, por lo que es necesario realizar estudios detallados del medio ambiente que rodea a los recién nacidos para determinar el principal factor contaminante y extremar las medidas prolifácticas necesarias para la disminución del nivel de portación de S. aureus en los recién nacidos.

Sugiero que una de las medidas de control para disminuir el índice de portación de Staphylococcus aureus sería instalar sistemas de filtros de aire en las salas de expulsión (tococirugía), cirugía y cuneros del hospital para impedir el paso de partículas mayores de 4 μ m ya que

en este rango está el Staphylococcus.

Otra medida de control sería extremar la vigilancia en el personal que presente focos de infección para que se impida el acceso a zonas de alto riesgo dentro del hospital.

Por otro lado hubiera resultado interesante continuar el avance de este estudio en los primeros 2 años de vida para conocer si los 31 casos que presentaron S. aureus continúan portándolo y si se desarrolla alguna manifestación -- clínica asociada con esta bacteria. Además de conocer si el 69% restante adquirió S. aureus en ese período.

Espero que los resultados obtenidos cumplan con el objetivo de esta investigación y puedan tener alguna aplicación directa para disminuir la incidencia de portación de S. aureus que con mayor frecuencia es responsable de distintas enfermedades del hombre.

BIBLIOGRAFIA

1. Bornstein N. Tissot D, Flandrois J-P, Fleurette J. Detection of "Staphylococcus aureus" protein A on selective cultura media, Annales de Microbiologie. 131-A:285-290 Mayo-Junio --- (1980).
2. Bradshaw J.L., Microbiología de Laboratorio, Ed. El Manual - Moderno, S.A., México 12,30,75,92. (1976).
3. Deures L.A., Resistencia a Lincomycin en "Staphylococcus aureus" patógenos en animales, Annales de Microbiologie ---- 131-B:61-266, Noviembre-Diciembre (1980).
4. Dulbecco D, Einsen, Ginsberg, Wood, Mc Carty, Tratado de Microbiología, Ed. Salvat, Barcelona, 752-763 (1980).
5. Frazier, W.C., Microbiología de los Alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 425-434.
6. Gómez Pompa A., Barrera A. Gutiérrez Vázquez J.M. Halfter G, Biología Unidad Diversidad y Continuidad de los Seres Vivos, UNAM, IPN, Ed. CECSA, México, 243-246 (1968).
7. Jawetz E. Melnick J.L., Delberg E.A. Manual de Microbiología Médica, Ed. El Manual Moderno, S.A., México 182-186 (1981).
8. Junqueira L.C., López Sáez J.F., Biología Celular, La Prensa Médica Mexicana. 255-261 (1981).
9. Kiortsis M., Estudio Cinético de la Coagulasa y Crecimiento del "Staphylococcus aureus" acción comparativa y combinada de antibióticos y gama radiación, Annales de Microbiologie - 131-A:17-29, Enero-Febrero, (1980).
10. Lennette E.H., Spulding E.J. y Truat J.P. Ed. Manual of Clinical Microbiology, 2a. ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1974).
11. Pelczar J.Chan E.C.S., Elementos de Microbiología, Mc Graw - Hill, Inc. USA, 409, 419, 712. (1981).
12. Selva J. Zemelman R., Moncada M.A., Estudio de Laboratorio - sobre bacterias Gram-negativas y Staphylococcus aureus, Rev. Latinoamericana de Microbiología, 20:69-73 (1978).

13. Servin Massieu M., Algunas Diferencias Metabólicas entre - Staphylococcus aureus sensible y sus mutantes a tetraciclinas, Rev. Latinoamericana de Microbiología, 2:219-227.(1959)
14. Sheagren K.N., M.D. Staphylococcus aureus, The Persistent Pathogen, The New England Journal of Medicine Medical Progress. May. 24, (1984).
15. Sheagren J.N., M.D. Staphylococcus aureus, The Persistent Pathogen, The New England Journal of Medicine, Medical Progress May. 31, (1984).
16. Zinsser, Wolfgang K., Yoklik Willetl H, Bernard D., Microbiología, Ed. Panamericana Buenos Aires. 504-522, (1983).

Anexo 1

CEDULA DE CONTROL

PORTACION DE Staphylococcus

Nombre de la madre _____ Fecha _____

Cédula _____

Sexo del neonato _____ peso _____ Hr. de nacimiento _____

Tipo de nacimiento _____ No. cunero _____

Día ingreso del niño _____

Día egreso del niño _____

Resultados:

De la primera muestra: (En la sección tococirugía)

De la segunda muestra: (Cunero correspondiente)

Observaciones:

Anexo 2

MATERIAL POR MUESTRA

1. Hisopo estéril
2. Tubo con 0.5 ml. de caldo cerebro-corazón (DIFCO)
3. Dos cajas de Petri con medio agar-sangre estéril (DIFCO)
4. Asas y agujas de inocular
5. Mechero Bunsen

MATERIAL POR COLONIA:

1. Dos tubos con 0.3 ml. de caldo cerebro-corazón (DIFCO)
2. Tubo con 0.4 ml. de Manitol esterilizado (DIFCO)
3. Tubo con 0.3 ml. de agar-glucosa inclinado (DIFCO)
4. 0.5 ml. de plasma citratado u oxalatado de conejo 4:1
5. Pipetas estériles de 1 ml.
6. Asas y agujas de inocular
7. Tubo con 1 ml. de glicerol citratado
8. Microscopio
9. Tinción Gram
10. Centrífuga clínica



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente

Número .207/85.....

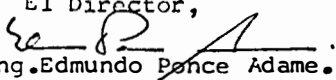
Srita. Beatriz Eugenia Borrayo R.
P R E S E N T E.

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis " Frecuencia de portación - de Staphylococcus aureus en neonatos" para obtener la Licenciatura en Biología, con Orientación en Docencia.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el Dr. Sergio Aguilar Benavides.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., 17 de Mayo de 1985

El Director,

Ing. Edmundo Ponce Adame.



FACULTAD DE CIENCIAS

C.C.P. El C. Dr. Sergio Aguilar Benavides, Director de Tesis Presente.-

C.C.P. El expediente de la alumna.-

11 DE AGOSTO DE 1986,


DR. CARLOS ASTENGO OSUNA,
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS,
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E .

POR ESTE MEDIO COMUNICO A USTED QUE LA SRITA, BEATRIZ EUGENIA BORRAYO RODRIGUEZ, CON NÚMERO DE REGISTRO 080359195 PASANTE DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA, HA CONCLUIDO SATISFACTORIAMENTE EL TRABAJO DE TESIS TITULADO ; FRECUENCIA DE PORTACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS - AUREUS EN NEONATOS, REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA - DE LA SECCIÓN DE PATOLOGÍA EXPERIMENTAL DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE OCCIDENTE Y EN EL HOSPITAL DE GINECOBSTERIA DEL CENTRO MÉDICO DE OCCIDENTE DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

ASIMISMO, LE INFORMO QUE HE REVISADO EL MANUSCRITO DE LA TESIS Y CUMPLE CON LOS REQUERIMIENTOS SOLICITADOS POR LA FACULTAD DE CIENCIAS.

QUEDANDO A SUS ÓRDENES, AGRADEZCO LA ATENCIÓN PRESTADA.

A T E N T A M E N T E ,


DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES.