

PORTADORES ASINTOMÁTICOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS  
PRODUCTORES DE BETA-LACTAMASA

(Estudio de 300 estudiantes de ambos sexos de 1ero.,  
3ro. y 6to. grado de la Facultad de CCMM de la USAC,  
Mayo-Julio de 1985)

MARCOS ANIBAL CASTELLANOS CERMEÑO

## CONTENIDO

INTRODUCCION

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

JUSTIFICACION

OBJETIVOS

REVISION BIBLIOGRAFICA

MATERIAL Y METODOS

PRESENTACION DE RESULTADOS

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

RESUMEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

## INTRODUCCION

El interés en la patogénesis de la enfermedad estafilocócica ha aumentado en los últimos años por una incidencia creciente de enfermedades severas, particularmente en medios hospitalarios, en donde muchas cepas son ahora resistentes a los antimicrobianos (4, 5, 9,18).

El diagnóstico y el tratamiento específico de las entidades clínicas producidas por el *Staphylococcus aureus* dependen del aislamiento de este microorganismo por medio de cultivos. Hay mayor índice de sospecha especialmente en grupos de personas en quienes se piensa tienen un aumento de la tasa de portador nasofaríngeo; personal médico, paramédico y administrativo de un centro hospitalario. (9, 15, 16,23).

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la USAC, en estudiantes de la carrera de Médico y Cirujano de tres diferentes grados (1ero., 3ero. y 6to.). Se pretende establecer en qué grado varía, especialmente al pasar por la práctica hospitalaria, el estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* productor de Beta-Lactamasa, se aisló mediante cultivos de la mucosa nasal en Agar Sal Manitol, realizándose asimismo la prueba de la coagulasa y de producción de Beta-Lactamasa.

El estudio se realizó durante los meses de mayo y junio del año en curso, con un total de 300 cultivos entre los tres grupos de estudio.

## DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

**Staphylococcus aureus** es una de las causas más comunes de infecciones nosocomiales, continúa siendo un patógeno importante y ha desarrollado nuevas capacidades de resistencia para cada prueba de control por las defensas del organismo o para nuevos agentes antimicrobianos (1, 9, 13, 20).

El microorganismo extrañamente se adapta a la microbiota local y probablemente la colonización y el crecimiento sean controlados por otros componentes de la microbiota normal (otros estafilococos o estreptococos). Una vez establecida la microbiota local el **Staphylococcus aureus** puede colonizar rápidamente, invadir y destruir tejidos, especialmente si existe un cuerpo extraño presente, causa enfermedad local y en ocasiones diseminación extensa (7, 9, 16).

La mayoría de **Staphylococcus aureus** eran muy sensibles a la penicilina G cuando este antibiótico comenzó a usarse en terapéutica, pero en el curso de los años se han producido en creciente número cepas resistentes al fármaco, siendo la principal causa de esta resistencia la producción de Beta-lactamasa (4, 13, 14, 16, 19).

El aumento en la resistencia del estafilococo en los hospitales es bien conocida. Los pacientes hospitalizados, quienes parecen ser más susceptibles de adquirir infecciones con estos organismos son individuos inmuno comprometidos, y éstos se encuentran en contacto con personas portadores asintomáticos de este germen potencialmente patógeno (20, 23).

El presente estudio describe la presencia de **Staphylococcus aureus** productor de Beta-lactamasa (o sea resistente a ciertos antibióticos -que en su estructura química poseen el grupo Beta-lactam-) en la mucosa nasal de los estudiantes de medicina.

presentando la variación que existe en estudiantes de primer año, a media carrera y al finalizar la misma.

## JUSTIFICACION

Conscientes de la necesidad que existe en nuestro medio de un estudio bacteriológico para determinar en que proporción se encuentra el estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* productor de Beta-lactamasa, en los estudiantes de medicina, veo la importancia de este estudio, teniendo en cuenta que el estudiante está en contacto directo con individuos con infecciones estafilocócicas; así como con recién nacidos y pacientes inmuno comprometidos.

Se pretendió, asimismo demostrar la variación que pudiera existir al pasar por la práctica hospitalaria, por lo que se investigó en tres grupos de estudiantes a diferente nivel académico y en diferentes lugares de práctica.

## OBJETIVOS

- 1) Determinar el estado de portador asintomático en mucosa nasal de *Staphylococcus aureus* productor de Beta-lactamasa en estudiantes de la carrera de Médico y Cirujano de la USAC.
- 2) Investigar en qué proporción varía el estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* productores de Beta-lactamasa en estudiantes de medicina de 1ero., 3ro. y 6to. grado.
- 3) Determinar si existe un aumento en la frecuencia de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* en los tres grupos de estudiantes de medicina, a través de su paso por los diferentes hospitales.

## REVISION BIBLIOGRAFICA

*Staphylococcus aureus*, son cocos grampositivos, aerobios, anaerobios facultativos, inmóviles, pueden observarse solos, en pares, pero más comúnmente en racimos. Constituyen un género de la familia Micrococcaceae (7, 8, 17, 18).

Estos organismos miden de 0.8 a 1 um de tamaño, son esféricos, pero su superficie de oposición puede aparecer algo aplanada, no tienen flagelos ni esporas. Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* son claramente encapsulados, pero otros no, y no existe relación entre la formación de cápsula y patogenicidad (12).

Con el microscopio electrónico se observa que el fino citoplasma granular está rodeado de una delicada membrana, la cual está netamente separada de la gruesa y rígida pared celular (17, 18).

Su pared celular está compuesta por cadenas rectas de B (1-4) glucanos unidas entre sí, que contienen 10-12 unidades alternadas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. Existen cadenas laterales compuestas por un pentapéptido, que se unen al grupo láctiléter del ácido murámico. Estas cadenas laterales se unen luego por medio de un puente intrapéptido, que en el *Staphylococcus aureus* está compuesta por pentaglicina, a la L-lisina por una cadena de pentapéptido y a la D-alanina por la otra. Esto produce un gran polímero llamado Peptidoglucano que confiere rigidez celular y que permite al organismo sobrevivir en medio osmóticamente agresivos (7, 8, 9).

En 1959 se descubrió que los estafilococos, como todas las demás bacterias grampositivas, producen polímeros complejos que contienen fosfatos llamados ácidos teicoicos, que se localizan tanto en la pared como en la membrana celular. Los ácidos teicoicos de la membrana contienen glicerol unido a fosfato. El ácido teicoico de la pared, cuyo tamaño varía entre 10,000 y

20,000 daltons, está unido por un enlace fosfodiéster al glucopéptido del ácido murámico, que a su vez forma parte del complejo peptidoglucano. Este ácido puede actuar como una resina de intercambio iónico para ayudar a mantener altas concentraciones de cationes bivalentes en la región de la membrana celular (7,8, 9).

Los ácidos teicoicos son poco antigénicos por si mismos, pero cuando se unen al peptidoglucano provocan la formación de anticuerpos específicos. Los anticuerpos antiteicoicos descubiertos por la técnica de difusión en gel pueden asociarse en particular con la endocarditis estafilocócica activa (7,9).

Otra proteína de la pared del estafilococo es la proteína "A", que tiene un peso molecular de 42,000 daltons y está presente en la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Se ha demostrado que se distribuye a nivel de la capa más externa de la pared celular adherida al complejo peptidoglucano (9). Esta proteína superficial puede interferir con la fagocitosis y opsonización. Está intensamente ligada a la porción Fc de cualquier molécula IgG. Esto hace que la porción Fab de cualquier molécula de anticuerpo esté cara afuera, de manera que está libre para combinarse con un antígeno específico. Este proceso ha hallado muchas aplicaciones en inmunología y tecnología diagnóstica (por ejemplo: la proteína estafilocócica A con un anticuerpo específico IgG insertado, dirigida contra la bacteria X, aglutina a esta última; esto es "coagulación") (7, 9).

#### CLASIFICACION: (17)

Algunas características diferenciales de microorganismos de la familia Micrococcaceae son los siguientes: catalasa positivos, fermentan la glucosa, anaerobios facultativos y además:

- Manitol fermentado, coagulasa positiva y resistente al calor nucleasas (*Staphylococcus aureus*).
- Manitol no fermentado, coagulasa negativa, no resistente al calor nucleasas (*Staphylococcus epidermidis*).
- Manitol no fermentado, coagulasa negativa, novobiocina resistente (*Staphylococcus saprophyticus*).

En el trabajo de laboratorio todos los estafilococos coagulasa positivos deben llamarse *aureus*, sin tener en cuenta hemólisis ni pigmentación (18). Ya que aproximadamente el 97% de estafilococos asociados con procesos patológicos en humanos son capaces de elaborar esta enzima y por lo tanto han sido clasificados como *Staphylococcus aureus* (12).

La tipificación por bacteriófagos es la prueba más segura y final de identificación de *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, no tiene significación diagnóstica ni terapéutica, pero es esencial en la detección de fuentes de epidemias infantiles en hospitales y otros brotes y en el control de estos sucesos. Se basa en la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a la infección por diversos virus bacterianos (bacteriófagos) que son específicos de los estafilococos.

El juego de bacteriófagos básicos en uso (número mínimo) usado para tipificar *Staphylococcus aureus* es el siguiente:

Grupo I: 29, 52, 52A, 79, 80

Grupo II: 3A, 3B, 3C, 55, 71

Grupo III: 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A

Grupo IV: 42D

Varios: 81, 187

Se ha encontrado prevalencia de resistencia a múltiples antibióticos en cepas tipificadas por fagos del grupo I y III. (5, 17).

#### TOXINAS Y ENZIMAS DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

Los estafilococos pueden producir enfermedad tanto por su capacidad de multiplicarse y diseminarse ampliamente en los tejidos, como por la producción de diversas sustancias extracelulares. Entre estas últimas se encuentran las siguientes:

Exotoxina: es un material filtrable, termolábil, letal para los animales por inoculación parenteral, provoca necrosis de la piel y contiene diversas hemolisinas solubles que pueden ser separadas por electroforesis.

Alfa hemolisina: es una proteína de peso molecular de 30,000 daltons. Es inestable en estado puro y no se le encuentra en todas las cepas. El código genético de la alfa hemolisina es de localización cromosómica, pero existen observaciones de que su producción puede tener lugar también en el plasma. La alfa hemolisina produce lesión de la membrana de algunas células, en especial de los hematíes a los que lisa tras unirse con un receptor específico de la pared. Menos del 1% de los hematíes humanos son sensibles, mientras que el 100% de los hematíes de conejo se lisan con la alfa hemolisina. En modelos animales esta sustancia puede producir lesiones dermonecróticas. Es una potente neurotoxina cuyo lugar de acción puede estar en el hipotálamo. Aunque se producen anticuerpos contra esta toxina, estos no parecen ser protectores (5, 7, 9)..

Beta hemolisina: proteína termolábil, cuyo peso molecular es de 30,000 daltons. Es una potente enzima, la esfingomielinasa, que hidroliza la esfingomielina

de la membrana celular. Los hematíes de diferentes animales tienen distinta sensibilidad a esta enzima en relación con su contenido de esfingomielina. Las membranas de hematíes humanos contienen un 26% de esfingomielina por peso, pero no toda está disponible como sustrato para la toxina; por esta razón las células humanas son relativamente resistentes a la lisis producida por la esfingomielinasa. Sin embargo, la beta toxina puede contribuir a la discreta hemólisis que acompaña a la infección estafilocócica (9).

Delta y Gamma hemolisina: estas toxinas fueron descubiertas porque eran contaminantes frecuentes en las preparaciones de alfa hemolisina. Ambas sustancias lesionan la membrana celular y parecen actuar más como detergentes que como enzimas.

Leucocidinas: es otro producto estafilocócico, compuesta por una sustancia electroforéticamente rápida (F) de peso molecular de 32,000 daltons y una sustancia lenta (S) con peso molecular de 38,000 daltons. Produce lisis específica de las membranas de granulocitos y macrófagos. Se produce una alteración de la permeabilidad de la membrana para el potasio y una interacción de la toxina con trifosfoinositina. En modelos animales también actúa como un compuesto antifagocítico. La toxina es antigénica, pero la presencia de anticuerpos no parece modificar la enfermedad humana (9).

Coagulasa: Es una enzima que define al grupo *Staphylococcus aureus* distinguiéndolo del *Staphylococcus epidermidis*. La coagulasa que causa la coagulación del plasma, puede ser soluble o estar unida a la célula. Actúa sobre una proteína sanguínea llamada factor de liberación de coagulasa (FLC), la cual tiene propiedades similares a la trombina y puede ser un derivado de la protrombina. La activación del factor de liberación de coagulasa conduce a la formación de una sustancia semejante a la trombina llamada trombina coagulasa (TC). Esta TC difiere de la trombina clásica en que

no es inhibida por la hirudina, heparina o antitrombina III. La trombina coagulasa convierte el fibrinógeno en fibrina, pero al contrario de la trombina, la fibrina producida finalmente no puede activar el sistema fibrinolítico. El papel de la coagulasa en la coagulación es incierto; pero en estudios con animales, cuando se inyectan gérmenes en la cavidad peritoneal, la coagulasa ligada activa la coagulación, conduciendo al agrupamiento de bacterias y facilitando la fagocitosis (9).

Hialuronidasa: también conocida como factor de difusión o extensión produce una digestión del ácido hialurónico un mucopolisacárido ácido que se encuentra en la sustancia fundamental del tejido conectivo y por lo tanto colabora en la difusión de la infección a través de planos histicos. Tanto las cepas patógenas como las que no lo son producen esta enzima. Además, los anticuerpos antihialuronidasa que se forman durante la infección no parecen prevenir una nueva enfermedad estafilocócica.

Penicilinasas (Beta-lactamasas): se conocen más de 50 Beta-lactamasas diferentes, la mayor parte producidas bajo control de los plasmidios bacterianos. Los plasmidios se transmiten por transducción. Las bacterias son huéspedes de estos pequeños elementos genéticos extracromosómicos. Los plasmidios no son esenciales para la célula bajo condiciones ordinarias de crecimiento. Estos transportan un gen que origina que la célula bacteriana produzca una penicilinasa potente, haciéndola resistente a la penicilina (5, 7, 9, 17).

Muchas cepas de *Staphylococcus aureus*, particularmente las lisadas por los bacteriófagos en los grupos I y III, son resistentes a la penicilina. La resistencia es debida a la inactivación de la penicilina por una enzima, la penicilinasa la cual abre el anillo B-lactam de la molécula. Su producción puede ser por la exposición de los organismos a algunas

penicilinas sintéticas, a despecho del hecho de que estos compuestos son solamente mínimamente susceptibles a la enzima.

La formación de penicilinas ha sido demostrada en cepas aisladas antes del uso general del antibiótico, sugiriendo que la prevalencia corriente de cepas penicilino resistentes es el resultado de un grado de selección más que de mutación reciente (5, 9, 17).

Enterotoxina: la mayoría de casos de envenenamiento alimenticio relacionados con bacterias o productos bacterianos son causados por enterotoxinas estafilocócicas. Es producida por unas pocas cepas de *Staphylococcus aureus* y estos son generalmente de tipo fago 6/47 ó 42D. Existen varios tipos antigénicamente distintos de enterotoxinas. La A y la B son las más comunes; las enterotoxinas son básicamente proteínas tripsinoresistentes, ricas en lisina. La B tiene un peso molecular de 24,000 y está libre de lípidos y carbohidratos. La enterotoxina es pirógena y su sitio de acción no está bien determinado, pero todo indica que sus efectos son mediados por neuronas centrales y/o periféricas más que de una acción directa sobre el intestino (5, 7, 9, 17).

Exfoliatina: es una toxina que provoca lesiones dérmicas. Existe en dos formas: ETA, estable a  $-30^{\circ}\text{C}$  y ETB que es inestable a la misma temperatura. Ambas son estructuralmente similares y difieren en que el gen determinante de la ETA está contenido en los cromosomas del estafilococo, mientras que el de la ETB es extracromosómico, es decir que ha sido proporcionado por un fago. Esto tiene importancia porque entonces otros tipos de fagos pueden elaborar la toxina. Esta toxina altera la adhesividad de las células del estrato granuloso. No está claro si lo hace por efecto enzimático o por aumento de la acumulación de líquido en el espacio intercelular, lo que da como resultado un despegamiento de la piel a nivel del estrato granuloso. Esta separación

de la piel provoca la exfoliación observada clínicamente la que puede ser localizada o generalizada.

Otras Sustancias: entre estas se encuentran nucleasas, proteasas, fosfatasa, lipasas y fosfolipasas. Ciertas cepas también producen una autolisina (5, 7, 9, 17).

#### AISLAMIENTO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

Crece fácilmente en gran variedad de medios nutrientes. Los requerimientos de aminoácidos varía de cepa a cepa, pero la cistina, valina, glicina, prolina, ácido aspártico y leucina son usualmente necesarios. La tiamina y el ácido nicotínico son esenciales para el crecimiento en medio aeróbico.

La temperatura de crecimiento máximo es de 36 a 38°C, pero el microorganismo puede multiplicarse bien a temperatura de 10 a 45°C. Muchas cepas crecen sobre un ancho grado de PH, 4.8 a 9.4, pero lo óptimo es un PH neutro (7, 9, 13).

Las colonias individuales en agar son redondas convexas con un diámetro de 1 a 4 mm. y un borde agudo. La mayoría de las cepas no son mucoides. La producción de pigmento por el *Staphylococcus aureus* varía de blanco a amarillo, dependiendo de la cepa y el medio usado. En cajas con agar sangre aparece fuertemente rodeado de una zona de hemólisis clara. El pigmento amarillo oro que se encuentra más comúnmente es debido a los carotenoides, delta caroteno y rubixanteno. El pigmento no está asociado a la patogenicidad del mismo.

En un cultivo dado, las colonias pueden aparecer con pigmentación alterada, con variaciones cuantitativas y cualitativas en la producción de enzimas difusibles y toxinas; también con susceptibilidad variable a los bacteriófagos y agentes antimicrobianos.

Las formas G fueron notadas en medios con cloruro de litio y son también producidas en medio que contenga antibióticos, especialmente penicilina. Las bacterias resistentes a bacteriófagos en un cultivo sensible también pueden formar colonias G; éstas son aplanadas y sin pigmento, tienen poco o nada de coagulasa libre y son resistentes a los antibióticos. La reversión ocurre después de un período variable de tiempo. Las bacterias parecen ser normales, excepto por unas formas hinchadas. Han sido aisladas de pacientes no tratados, así como de los que recibieron tratamiento con antibióticos (7, 9, 13, 16, 17, 18).

Las formas L han sido también aisladas de medios con penicilina, difieren de las G morfológicamente y en su requerimiento de condiciones hipertónicas para su aislamiento inicial.

El aislamiento de *Staphylococcus aureus* puede lograrse fácilmente usando procedimientos bacteriológicos comúnmente aceptados. Su identificación y la valoración de la virulencia, en cambio son bastante discutibles. Muchos medios y la necesidad de diversas pruebas de patogenicidad y fermentación figuran entre las recomendaciones propuestas.

Entre los medios de aislamiento e identificación tenemos:

Agar sangre: cualquier buena base de agar sangre (base de agar sangre, agar infusión de corazón, agar soya triptona, agar Columbia, agar soya tripticasa) de 5-10% de sangre es lo que se recomiendan. La sangre de oveja de venta comercial se recomienda principalmente porque las células bovinas son lisadas por alfa-toxina, considerada como la toxina estafilocócica más importante, en tanto que los glóbulos rojos humanos son lisados por delta-lisina (17).

Caldo: infusión de corazón, soya triptosa y soya tripticasa son caldos que dan medios satisfactorios

de aislamiento y cultivo de estafilococos.

Agar Sal Manitol: este medio debe usarse además de agar sangre cuando se espera contaminación de otras bacterias, por ejemplo en muestras fecales de enteritis estafilocócica sospechosa, en muestras de infecciones de heridas o cuando se espera aislar sólo *Staphylococcus aureus*. Debido al gran contenido de cloruro de sodio (7.5%) y a la presencia de manitol y rojo fenol en este medio, *Staphylococcus aureus* aparece como una colonia amarilla rodeada de una zona también amarilla (esto indica que fermenta el manitol), en cambio otros organismos, incluso gramnegativos, se inhiben completamente (12, 17).

Otros medios son: Agar glicina telurito, medio para estafilococo No. 110 y Agar Chapman-Stone, Agar neomicina manitol y Agar fosfato de fenoltaleina y Agar Alcohol feniletílico.

Para el cultivo primario se siembran las placas cuidadosamente con trazos cruzados para asegurar colonias bien aisladas. Se incuban las placas de agar sangre durante 16-24 horas y las placas de agar sal manitol durante 24-48 horas.

El examen de los cultivos primarios en la placa de agar sangre demuestra colonias redondas lisas opacas, húmedas, brillantes en cúpula, "con aspecto de cuadro de óleo" de 5 a 7.5 Cms. de diámetro crecen de 18-24 hrs. después de la inoculación (17). Puede existir hemólisis o pigmentación, aunque en ausencia de estas dos características no puede descartarse que sean cepas potencialmente patógenas, por ello no debe descartarse la placa y debe seguir examinándose. En la placa de Agar Sal Manitol se seleccionan las colonias rodeadas de una zona amarilla que indica fermentación del manitol. Si hay poco crecimiento en la placa original de agar sal manitol volver a incubar hasta el día siguiente (12, 17).

## CRITERIOS DE IDENTIFICACION DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

La prueba de coagulasa es la prueba individual in vitro más importante, y la que hoy se considera más significativa en la diferenciación de estafilococos potencialmente patógenos y no patógenos; como ya se mencionó anteriormente, aproximadamente el 97% de *Staphylococcus aureus* son coagulasa positivos, lo que los clasifica como patógenos (12).

La fermentación del manitol, la hemólisis y la pigmentación, criterios antes muy estimados, no se aceptan actualmente, por sí solos, como criterios válidos para distinguir *Staphylococcus aureus* de otros estafilococos, debe mencionarse siempre las colonias coagulasa-positivas y coagulasa-negativas que se encuentran (12).

Entre algunas de las pruebas de coagulasa que se conocen están: la prueba del tubo, en la que se utiliza plasma citratado de conejo 0.5 ml. de no diluido o diluido 1:4 en solución fisiológica, en una colonia de cocos grampositivos de 18 a 24 horas de crecimiento en el agar, utilizando 0.1 ml de caldo del cultivo, o una colonia sencilla del agar. Se incuba en baño de agua a 37°C, y se examina cada 30 minutos por 4 horas. Si no hay coágulos, al final de este período, se examinan los tubos a las 6 y 24 horas. Un test coagulasa positivo es representado por cualquier grado de coagulación. La mayoría de cepas coagulasa positivas producen coagulación en las primeras 4 horas (12).

La prueba en portaobjetos, es una de las formas más rápidas y fáciles de hacer la prueba de coagulasa. Esta prueba detecta coagulasa ligada; se puede llegar a una correlación del 99% de este método con el convencional de la prueba del tubo.

También se pueden utilizar productos comerciales liofilizados, que son más uniformes que el plasma

elegido al azar, este método también da resultados satisfactorios.

## MÉTODOS DE PRUEBA DE BETA-LACTAMASA

La determinación de producción de B-lactamasa se hace raramente, excepto con *Hemophylus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Staphylococcus aureus*. La producción de B-lactamasa puede manifestarse más tardíamente con los estafilococos. La prueba debe incubarse por lo menos una hora. Otra diferencia entre los estafilococos y los otros dos, en que las B-lactamasa producidas por estafilococos pueden ser inducibles, mientras que las B-lactamasa de *Hemophylus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae* no lo son.

Se describen a continuación cuatro pruebas de producción de B-lactamasa, cada una tiene sus ventajas y desventajas y su aplicabilidad varía con respecto a cada laboratorio y a la disponibilidad del material de prueba.

### 1) Prueba Yodométrica rápida:

#### (a) Ventajas:

- resultados rápidos conocidos el mismo día que se dispone del cultivo puro para probarlo.
- reactivos de fácil obtención y bajo costo.
- facilidad de realización
- la placa original puede usarse si hay colonias bien aisladas (las muy contaminadas no son apropiadas).
- punto terminal bien definido y fácil de leer.

### (b) Desventajas:

- prueba de pasos múltiples
- reactivos menos estables que la cefalosporina cromógena.

### 2) Prueba Acidométrica:

#### (a) Ventajas:

- resultados rápidos conocidos el mismo día que se dispone del cultivo para probarlo.
- reactivos de fácil obtención y bajo costo.
- facilidad de realización.
- prueba de un solo paso
- puede usarse de la placa original de cultivo si hay colonias bien aisladas (las placas muy contaminadas no son apropiadas).

#### (b) Desventajas:

- requiere ajustes correctos de PH.
- los reactivos son menos estables que la cefalosporina cromógena.

### 3) Prueba de Cefalosporina Cromógena:

#### (a) Ventajas:

- puede usarse fácilmente en el campo; simple y fácil de hacer.

- reactivos estables.
- resultados rápidos el mismo día que el cultivo está listo para probar.
- la placa original de cultivo puede usarse si hay colonias bien aisladas (las placas muy contaminadas no son apropiadas).

(b) Desventajas:

- La cefalosporina cromógena no siempre es fácil de conseguir y debe obtenerse en una sola compañía inglesa.

4) Prueba rápida en portaobjetos para reactivos de penicilinasa (3, 14, 18).

**MECANISMOS DE RESISTENCIA:**

En la era preantibiótica, la bacteriemia estafilocócica era causa del 80% de mortalidad. Inicialmente el organismo era susceptible a varias sustancias antimicrobianas como sulfonamidas y penicilina. Asimismo, el uso de los antibióticos se desarrolló durante la década de los cincuenta. Durante 1960, las primeras cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a los antibióticos Beta-lactamasa resistente fueron reportados en Europa, y en 1970 en hospitales de los Estados Unidos comenzaron a describir infecciones con cepas resistentes semejantes (13, 20).

El conocimiento de los mecanismos de resistencia del *Staphylococcus aureus* ante los agentes activos sobre la pared bacteriana es esencial para utilización racional de estos antibióticos en pacientes con infecciones estafilocócicas.

Los tres tipos de resistencia estafilocócica conocidos son producción de penicilinasa, resistencia intrínseca y tolerancia (9, 16).

La producción de penicilinasa está mediada por un material genético extracromosómico llamado plásmido. Esta enzima es responsable de más del 85% de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina G. (9).

La resistencia intrínseca no está causada por inactivación enzimática del antibiótico. Esta resistencia es de causa cromosómica y es heterogénea en el sentido que está presente en sólo un pequeño porcentaje de *Staphylococcus aureus*. El mecanismo de resistencia más recientemente descrito es la tolerancia. Se trata de un fenómeno comprobado *in vitro* caracterizado por resistencia a la acción letal de un antibiótico normalmente bactericida y manifestada por una discrepancia entre la CIM (concentración inhibitoria mínima) y CBM (concentración bactericida mínima) de un agente bactericida para un germen (9, 13).

La resistencia a la meticilina es independiente de la producción de la Beta-lactamasa. Es probable que los genes que codifiquen para esta enzima residan en el cromosoma, en ocasiones se transmiten por transducción. Aún se desconoce el mecanismo exacto pero es una función de la estructura de la pared celular (13).

La tolerancia implica que los estafilococos son inhibidos por un medicamento, pero no son destruidos por éste, es decir, que hay una gran diferencia entre las dosis mínima inhibitoria y la dosis mínima mortal. La tolerancia puede en ocasiones atribuirse a la falta de activación de las enzimas autolíticas de la pared celular (7).

## EPIDEMIOLOGIA:

El *Staphylococcus aureus* forma parte de la microbiota indígena del hombre, sin embargo las enfermedades causadas por él, y de carácter grave, son raras. La colonización comienza en la infancia de la primera semana a los diez días un 90% de recién nacidos son portadores nasales del microorganismo. El grado de portador nasofaríngeo en adultos es de un 15% de personas no asociadas al hospital (20). El organismo se encuentra más comúnmente en las coanas, a veces también en la piel. Puede permanecer viable por largos períodos de tiempo en el suelo, ropa y en el medio ambiente, El modo de transmisión aérea permanece incierto, y la forma más importante es el contacto directo persona a persona. Más a menudo en el medio hospitalario el *Staphylococcus aureus* se transmite de paciente a paciente o por trabajadores del hospital con un descuido en el lavado de manos (20).

Pacientes o empleados del hospital con infección estafilocócica activa son probablemente la fuente más grave de infecciones cruzadas que el simple estado de portador. Asimismo, en algunas circunstancias el portador nasal asintomático, ha sido fuente de infección estafilocócica. (16, 20).

La adquisición y la calidad de portador de *Staphylococcus aureus* en adultos es una situación compleja; es sabido que unas personas son siempre portadoras, otras no lo son nunca y algunas personas son portadoras intermitentes. *Staphylococcus aureus* coloniza transitoriamente la nasofaringe de 70 a 90% de los individuos y reside permanentemente en 20% (20).

Aproximadamente el 20 a 30% de pacientes hospitalarios se vuelven portadores de la cepa prevalente en el hospital (20). La incidencia de la colonización aumenta con la estancia hospitalaria

y además en pacientes tratados con antibióticos a los cuales el germen es resistente.

Ataques de enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus* ocurren en salas de adultos de Medicina y Cirugía, así como en las salas de Recién Nacidos. Las personas más susceptibles son aquellas que han sufrido procedimientos de cirugía mayor y las que tienen infecciones sobreagregadas, incluyendo neoplasias, diabetes mellitus, agammaglobulinemias, anemia aplásica, agranulocitosis o influenza (20).

El hallazgo de personas asintomáticas con cepas epidémicas de *Staphylococcus aureus* origina el "portador peligroso". Sin embargo, la enfermedad no es exclusivamente causada por estos microorganismos y muchos humanos portan cepas epidémicas sin aparente daño para ellos o sus allegados. Debemos estar alertas a la existencia de cepas con "virulencia epidemiológica" por la posibilidad de brotes de enfermedades severas (20).

En vista del grado extremadamente alto de portadores humanos es claro que el reservorio principal es el hombre, pero algunos animales domésticos, incluyendo perros, pueden ser portadores asintomáticos de cepas asociadas con enfermedades humanas. En adición, las cepas implicadas en enfermedades de animales, como las que producen la mastitis bovina, pueden también producir enfermedad en el hombre (5, 6, 8, 10, 15, 16, 20, 23).

## INMUNIDAD EN EL HOMBRE:

Muchos individuos normales poseen anticuerpos a una variedad de componentes y productos del *Staphylococcus aureus*, incluyendo alfa toxina, coagulasa leucocidina humana, hialuronidasa y estafiloquinasa. Algunos de estos anticuerpos cruzan la barrera placentaria; los títulos de éstos, en el infante, declinan durante los primeros meses de vida, y luego

aumentan durante los siguientes años, probablemente por estímulos antigénicos derivados de portadores de estafilococos o de lesiones menores. No se ha descubierto correlación entre el título de un anticuerpo particular y la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad, esto explicaría la falta de las vacunas (20).

### PROFILAXIS:

No existe un medio práctico para erradicar el *Staphylococcus aureus* de su amplia y usualmente benigna asociación con el hombre. Los esfuerzos deben ser dirigidos hacia la prevención y el control de enfermedades en hospitales donde los contactos ocurren entre personas susceptibles y donde se localizan las cepas más virulentas.

Unos principios generales son de importancia: las personas con lesiones estafilocócicas diseminan gran número de estos organismos y deben ser aisladas de adultos susceptibles o de recién nacidos; similarmente el personal hospitalario con lesiones abiertas debe ser suspendido. Los individuos altamente susceptibles deben ser protegidos de otros pacientes y de los portadores.

De especial interés es el hecho de usar los antibióticos indiscriminadamente, lo cual da lugar a cepas resistentes y a que prevalezcan tales cepas en una institución. Finalmente, todo procedimiento quirúrgico debe ser llevado con la asepsia estricta.

La determinación de los portadores asintomáticos de una cepa epidemiológica es difícil, pero en situaciones específicas, tales como una epidemia, deben ser aislados y no permitir su regreso a las salas hasta que el estado de portador termine o se modifique. En recién nacidos se ha evitado la contaminación lavándolos con germicida. También se ha colocado una cepa penicilino sensitiva en las

fosas nasales o en el cordón umbilical al nacer (cepa 502A), ya que la colonización con ella no provoca afección y previene la enfermedad, como ejemplo de la interacción bacteriana.

La intoxicación alimenticia provocada por el germen puede prevenirse evitando que personas con lesiones abiertas participen en la elaboración de alimentos o conservando en el refrigerador principalmente los que tienen leche o sus derivados (5, 7, 8, 13, 16, 20).

### ENTIDADES CLINICAS:

Entre las entidades clínicas más frecuentes que produce el *Staphylococcus aureus* están las infecciones superficiales: la foliculitis que se manifiesta por un pequeño nódulo eritematoso que envuelve el folículo piloso con una parte de tejido dérmico afectado. Al hacerse extensivo invadiendo la glándula sebácea y tejido subcutáneo se denomina furunculosis.

Esta es más común en cara, cuello, axilas, ante brazo, glúteo, muslo, tetillas. El acné del adolescente frecuentemente se complica con furunculosis. Cuando la infección involucra las glándulas en las axilas provoca la hidratenitis supurativa. Y en regiones de tejido duro, fibroso, piel inelástica en tórax posterior y cuello dan lugar a la formación de el carbunco. Todas estas lesiones pueden producir fiebre, leucocitosis, dolor extremo y postración, la bacteriemia es común.

Las lesiones extensas se dan más frecuentemente entre diabéticos. (1, 20).

El *Staphylococcus aureus* frecuentemente coloniza las lesiones impetiformes, pero más en niños debido a lesión estreptocócica del grupo A. Una forma de impétigo característicamente causado por *Staphylococcus aureus* es el impétigo buloso. Esta enfermedad representa

una severa piodermia exfoliativa. Cepas de *Staphylococcus aureus* de fagos del grupo II, usualmente tipo 71, producen la exotoxina (exfoliatina) produciendo separación de la epidermis de la capa granulosa. Esta producción de exotoxina está mediada por plasmidios.

Los síndromes pueden ser localizados o raramente, generalizados como por ejemplo: la necrólisis epidérmica tóxica, el síndrome de Ritter's, enfermedad de Lyell's, o el síndrome de piel escaldada (1, 20).

El *Staphylococcus aureus* es el responsable de la mayoría de casos de osteomielitis aguda. Esta infección ocurre más comunmente en niños menores de 12 años de edad, pero los adultos también son susceptibles a la osteomielitis, especialmente de la columna vertebral. Aproximadamente el 50% de pacientes dan historia de un forúnculo o infección superficial precedente a la osteomielitis. El hueso puede comprometer a la diseminación hematógena de la bacteria. La localización más frecuente es en la diáfisis de los huesos largos. Muchos pacientes dan historia de trauma en el área involucrada. Recientemente se han reportado casos de osteomielitis clavicular secundaria o infección por colocación de catéteres subclavios. La infección puede alcanzar el subperiostio, levantar el periostio, formar abscesos y ruptura con infección de los tejidos subcutáneos. Raramente, la cápsula articular es penetrada, produciendo artritis piógena.

La osteomielitis usualmente comienza abruptamente con escalofríos, fiebre, náuseas, vómitos y un dolor progresivo en el sitio donde se desarrolla. La presencia de leucocitosis es la regla. Cultivos positivos para estafilococos se encuentran en el 50 a 60% de los casos. El tejido superficial se encuentra edematoso y caliente, la piel eritematosa y brillante (1, 2, 20).

A la neumonía estafilocócica le corresponde aproximadamente el 1% de las neumonías bacterianas adquiridas fuera de hospitales. Esta enfermedad ocurre esporádicamente, excepto durante epidemias de influenza, donde la neumonía estafilocócica es más común, si bien no es más frecuente que la infección neumocócica. La neumonía estafilocócica primaria en infantes y niños es causa de neumotórax y neumatocele. En jóvenes y adultos, la neumonía estafilocócica va precedida de una infección respiratoria tipo influenza. El ataque es abrupto con escalofríos, alta fiebre, disnea progresiva, cianosis, tos, dolor pleural y postración. (1, 2, 20).

El esputo en las fases tempranas no tiene características, pero puede ser con sangre o francamente purulento. La neumonía estafilocócica es una de las causas en pacientes hospitalizados. Muchos de estos pacientes que adquieren esta infección nosocomial tienen problemas pulmonares crónicos leucemias, mucoviscidosis u otras enfermedades debilitantes. La bacteriemia no es común en la neumonía primaria estafilocócica (menos del 20% de los pacientes).

La bacteriemia estafilocócica puede provenir de cualquier infección local. Infecciones de la piel (incluyendo infecciones adquiridas por colocación de catéteres venosos), del tracto respiratorio, hueso o tracto genitourinario. Trauma, lesiones o drenajes quirúrgicos pueden precipitar la bacteriemia. Raramente, pacientes con bacteriemia presentan signos y síntomas las primeras 12 a 24 horas, con alta fiebre, taquicardia cianosis, síntomas gastrointestinales y colapso vascular. Más comúnmente la enfermedad progresa más lentamente, con poca fiebre y metástasis de abscesos hacia piel, hueso, riñones, cerebro, pulmón, miocardio, bazo u otros tejidos. Meningitis es una complicación ocasional (1, 2, 20).

La endocarditis suele complicar a la bacteriemia por estafilococos de otros sitios. La enfermedad suele

ser de tipo agudo, maligno o ulceroso. La enfermedad tiene comienzo agudo con escalofríos, fiebre alta, anemia rápidamente progresiva, intensa leucocitosis, soplos cardíacos cambiantes, pústulas y petequias cutáneas, hemorragias en virutas de madera, hematuria y abscesos metastásicos. Se observa trombocitopenia y coagulación intravascular diseminada. Las válvulas cardíacas normales se destruyen en algunos días. Siendo la primera en afectarse la válvula aórtica. Con frecuencia hay abscesos del anillo de la válvula del miocardio que deben sospecharse cuando se presenta arritmia grave. Durante el curso de la endocarditis por estafilococos quizá se desarrolle glomerulonefritis proliferativa aguda del tipo de complejo inmune. (1, 2, 20).

Las enfermedades producidas por estafilococos a nivel gastrointestinal, son causa importante de gastroenteritis epidémica aguda o de intoxicación alimentaria. La toxina se forma antes de ingerir el alimento contaminado, generalmente almacenado o refrigerado de manera insuficiente. Mucho más raramente pueden originar enterocolitis pseudomembranosa aguda necrosante. Sobre todo después de cirugía abdominal, choque, terapéutica antimicrobiana o en las leucemias. Los síntomas incluyen dolor abdominal, flatulencia, íleo, fiebre, heces sanguinolentas, diarrea, depleción de electrolitos, deshidratación y choque.

Otras infecciones menos frecuentes son: la piartrosis (después de cirugía ortopédica o de osteomielitis), meningitis (suele deberse a traumatismo penetrantes, cirugía local o endocarditis bacteriana), el absceso epidural raquídeo primario (se observa en los narcómanos junto con esteomielitis vertebral), pericarditis (después de la bacteriemia o relacionado con osteomielitis o endocarditis y formación de abscesos miocárdicos focales y difusión al pericardio), parotiditis (se observa en adultos debilitados que se deshidratan y tienen poca higiene bucal), piomiositis tropical, conjuntivitis, otitis, sinusitis,

mastoiditis, celulitis periorbitaria. Ultimamente ha sido reportado el Síndrome del Shock Tóxico, que es el resultado de la producción en vivo de la toxina en el sitio de localización (1, 2, 9, 16, 20).

#### TRATAMIENTO:

Siempre se deben hacer cultivos adecuados y pruebas de sensibilidad a medicamentos para confirmar el diagnóstico de afección por estafilococo y como guía para el tratamiento. Aunque hoy en día se dispone de varios antimicrobianos para tratar estas infecciones, la susceptibilidad con frecuencia no predecible de los organismos limita la acción inicial a sólo algunos. Se prefieren los bactericidas análogos de la penicilina a menos que el paciente sea alérgico a ellos. Como la mayor parte de las cepas que causan infecciones en hospitales y en la comunidad son resistentes a penicilina G y ampicilina, la elección se limita a medicamentos que no sean inactivados en forma importante por la penicilinas del estafilococo.

Ahora el 60 a 90% de cepas aisladas de pacientes hospitalizados son resistentes a penicilina G, y la incidencia de infección por cepas productoras de penicilinas en individuos no hospitalizados es también alta (1, 2, 13, 20).

Para infecciones graves se recomiendan la meticilina, oxacilina, nafcilina, cefalotina y cefazolina. Utilizadas en forma adecuada producen al parecer resultados terapéuticos igualmente buenos. Se prefiere la penicilina, cuando el organismo es susceptible a ella, porque suele ser el medicamento más activo, conveniente y menos caro para administrar. Si el paciente es alérgico a la penicilina, se deben evitar todas las semisintéticas. La vancomicina, clindamicina, gentamicina, cefalotina, cefazolina o cefalexina, son substitutivos adecuados (1, 2, 13, 20).

La rifampicina puede ser usada para terminar

con el estado de portador nasal de *Staphylococcus aureus*. Por ejemplo, se podría tratar de abordar a pacientes quienes son portadores de *Staphylococcus aureus* con recurrencia de brotes de furúnculos. La resistencia ocurre cuando la droga es usada sola, por lo tanto, es importante que la rifampicina se use siempre con otra droga antiestafilocócica (16).

El uso de unguento antibacteriano intranasal (bacitracina) no tiene generalmente éxito, si se usa sólo. Se ha demostrado que una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada a nivel nasal puede ser eliminada con terapia local y sistémica. (16, 22).

También se recomienda la simple eliminación del ambiente hospitalario por 3 a 4 semanas; frecuentes baños con jabón vermícida y el uso tópico de antibióticos de bajo potencial de sensibilidad con base soluble -agua (bacitracina, neomicina, gentamicina o una combinación de estos agentes) 4 ó 5 veces diarias por 2 semanas (20).

#### ANTECEDENTES:

En nuestro medio, han sido pocas las investigaciones realizadas sobre *Staphylococcus aureus*. En 1971, los Doctores Ordóñez y Masselli presentaron en el Tercer Congreso Centroamericano y Primero Nacional de Microbiología un trabajo sobre "Portadores de *Staphylococcus aureus* en una población infantil", en donde cultivaron material de orofaringe de 200 niños en edades de 0-12 años, realizando prueba de susceptibilidad in vitro de *Staphylococcus aureus* aislado. La mayoría de cepas aisladas fueron resistentes a la penicilina. Sin embargo, hubo mayor número de cepas resistentes en niños hospitalizados que en niños portadores no hospitalizados.

En 1973, el Dr. José Luis González presentó su trabajo de tesis titulado "Investigación de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en Guatemala", en el cual de las 228 cepas que aisló no encontró ninguna resistente a la meticilina.

En 1975, otro estudio practicado en el laboratorio del Hospital Roosevelt por los Doctores Ordóñez y Ramírez con cepas de *Staphylococcus aureus* procedente de secreciones diversas (abscesos, vías respiratorias, sangre o médula ósea, conducto auditivo, cavidad pleural, cavidad articular y otros sitios) revelaron: que el 12% fue susceptible a la penicilina G; del 80-83% fueron susceptibles a una penicilina semisintética penicilinas resistente; 92% a cefalotina, 90% a eritromicina y 66% a lincomicina.

En 1976, el Lic. Fernando Zelada Moreira presentó su trabajo de tesis "Fagotipificación de *Staphylococcus aureus* aislados en recién nacidos de dos hospitales de Guatemala". Estudió 175 recién nacidos de la maternidad del Hospital Roosevelt y Obstetricia del IGSS. Encontrando en el Roosevelt, dentro de las primeras 36 horas de vida, un promedio de 58.3% de recién nacidos colonizados a nivel de ingle y cordón umbilical. Al 7to. día de vida el aislamiento fue de 54.3% para el área del ombligo y de 29.1% para la región inguinal. En el IGSS, fue de 29% para el área del ombligo y de 35.5% para la ingle, a las 36 horas de vida. Al 7to. día, 45.2% en el ombligo y 29% en la ingle. Los fagotipos de los grupos líticos I y III fueron los más frecuentemente aislados de las regiones anatómicas cultivadas.

En 1977, el Dr. Carlos Armando Ortiz presentó su tesis "Aislamiento de *Staphylococcus aureus* y bacilos gramnegativos en personal médico, paramédico, administrativo y medio ambiente en un hospital departamental"; el estudio lo realizó en el Hospital de Cuilapa, obtuvo 150 muestras de nariz, garganta y manos. Fueron positivos para *Staphylococcus aureus* nariz (8%), garganta (8.6%) y manos (10%). Del medio ambiente aislado, únicamente el 20% fue positivo.

En 1979, el Dr. Oscar Enrique González investigó "Susceptibilidad in vitro de *Staphylococcus aureus* aislado en pacientes hospitalizados y no hospitalizados"

Encontrando que un 92% de pacientes hospitalizados presentaron cepas resistentes a la penicilina y que en los no hospitalizados hubo sólo un 65%.

En 1980, en el Congreso Anual de la Sociedad Americana de Microbiología se realizaron trabajos acerca de la susceptibilidad del **Staphylococcus aureus**. En donde se encontró un aumento de las cepas resistentes a las penicilinas semisintéticas como la meticilina.

## MATERIAL Y METODOS

### METODOLOGIA:

- 1) La muestra consistió en 300 estudiantes de medicina de la USAC, de ambos sexos e inscritos en el ciclo estudiantil 1985. Se formaron tres grupos de estudio de 100 integrantes, que se clasificaron según grado académico así:
  - 1.1 Grupo A: estudiantes de 1er. grado.
  - 1.2 Grupo B: estudiantes de 3er. grado.
  - 1.3 Grupo C: estudiantes de 6to. grado.
- 2) Se solicitó la colaboración de los estudiantes, previa explicación de los propósitos del estudio, para obtener una muestra de secreción de mucosa nasal mediante hisopo.
- 3) Las muestras se sembraron en medio Agar Sal Manitol para cultivo y aislamiento del **Staphylococcus aureus**.
- 4) Las cepas que fermentaron el manitol, se resembraron en agar nutritivo y se incubaron por 24 hrs.
- 5) Luego, a estos cultivos se les realizó la prueba de coagulasa para poder diferenciarlos como **Staphylococcus aureus**, posteriormente, las cepas que fueron coagulasa positivas se les realizó la prueba de producción de Beta-lactamasa, mediante el método yodométrico.
- 6) Finalmente, los resultados se expresaron según porcentaje de estudiantes portadores de **Staphylococcus aureus** productor de Beta-lactamasa por grupo de estudio.

## MATERIALES:

- 1) Humano:
  - Secreción nasal obtenida por hisopo de 300 estudiantes de medicina de 1ero. 3ero. y 6to. grado.
- 2) Físico:
  - Instalaciones y equipo del Laboratorio Multidisciplinario de la Fac. de CCMM de la USAC.
  - 300 hisopos estériles.
  - 300 cajas de Petri descartables (5 x 100 mm.)
  - 300 tubos de hemólisis para prueba de coagulasa.
  - 1 libra de medio de cultivo Agar Sal Manitol.
  - 3 Fcos. de penicilina G potásica.
  - papel y lápiz.

## VARIABLES:

- 1) Portador asintomático de *Staphylococcus aureus* productor de Beta-lactamasa: aislamiento de *Staphylococcus aureus* de mucosa nasal comprobado por crecimiento en cultivo Agar Sal Manitol, Respuesta positiva a la prueba de coagulasa y respuesta positiva a prueba de producción de Beta-lactamasa.
- 2) Ser estudiante de medicina (1er. 3ero. y 6to. grado): estar inscrito en el ciclo estudiantil 1985 comprobado por tarjeta de asignación

de cursos.

## INSTRUMENTOS DE MEDICION DE VARIABLES:

- 1) Tarjeta de asignación de cursos extendida por la Fac. de CCMM de la USAC.
- 2) Cultivo en Agar Sal Manitol y prueba de Coagulasa
- 3) Prueba positiva de producción de Beta-lactamasa, mediante el método yodométrico.

## TECNICA DE AISLAMIENTO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

- 1) Se obtiene la muestra de secreción de mucosa nasal mediante aplicación de hisopo estéril, el cual se introduce en narina izquierda más o menos 2 Cm. y se deja por espacio de 1 minuto.
- 2) Se procede a sembrar en Agar Sal Manitol cuidadosamente con trazos cruzados para asegurar colonias bien aisladas, se inocula densamente. Se incuba la placa durante 24 a 48 hrs.
- 3) Según características de crecimiento de una colonia aislada tipo estafilococo rodeada de una zona amarilla, se procede a resembrar en agar nutritivo incubado por 24 hrs. y luego se realiza la prueba de Coagulasa: emulsionar una sola colonia de agar de 24 hrs. en 1 ml de plasma citratado de conejo (diluído 1:4 con solución fisiológica). Incubar a 37°C en baño de agua y examinar 1, 4, 6 y 24 horas después. Cualquier grado de coagulación se acepta como actividad de coagulasa.
- 4) Luego se procede a realizar la prueba Yodométrica rápida para producción de Beta-lactamasa mediante el procedimiento siguiente: dispensar 0.1 ml de solución de penicilina en pocillo de placa de microdilución o pequeño tubo de ensayo. Remover

el crecimiento de varias colonias de cultivo puro de 18 a 24 horas con una asa y hacer una suspensión turbia pesada en la solución de penicilina del pocillo. Una cantidad adecuada de inóculo debe producir una suspensión turbia. Revolver 30 segundos y dejar reposar la mezcla 1 hora a temperatura ambiente para que la Beta-lactamasa descomponga la penicilina a ácido peniciloico. Agregar 2 gotas de solución de almidón a la suspensión de bacterias y penicilina. Mezclar.

Agregar una gota de reactivo de yodo con pipeta de Pasteur. La solución se hace inmediatamente azul debido a la reacción del yodo y almidón. Si el yodo se añade prematuramente la reacción enzimática puede detenerse dando una prueba negativa falsa. Revolver la mezcla por 1 minuto. Una decoloración rápida indica la producción de Beta-lactamasa. Si la coloración sigue siendo azul más de 10 minutos es porque el cultivo no profujo la enzima.

## PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO Nº 1

NUMERO DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS PARA CRECIMIENTO EN CULTIVOS DE SECRECION NASAL EN ESTUDIANTES DE MEDICINA DE LA USAC., SEGUN GRADO ACADEMICO. MAYO-JULIO/85

(ambos sexos)

(medio Agar Sal Manitol)

GRADO	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
PRIMERO	62	38	100
TERCERO	67	33	100
SEXTO	73	27	100
TOTAL	202	98	300

Fuente: datos tabulados

CUADRO N° 2

NUMERO DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS PARA PRUEBA DE COAGULASA SEGUN GRUPO ACADEMICO ESTUDIADO.

(Prueba de coagulasa positiva = *Staphylococcus aureus*)

GRADO	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
PRIMERO	28	34	62
TERCERO	33	34	67
SEXTO	58	15	73
TOTAL	119	83	202

Fuente: datos tabulados y Cuadro No. 1.

CUADRO N° 3

NUMERO DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS PARA PRUEBA DE BETA-LACTAMASA SEGUN GRUPO ACADEMICO ESTUDIADO.

(Casos positivos para *Staphylococcus aureus*)

GRADO	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
PRIMERO	4	24	28
TERCERO	6	27	33
SEXTO	22	36	58
TOTAL	32	87	119

Fuente: Datos tabulados y Cuadro No. 2

CUADRO N<sup>o</sup>. 4

PORCENTAJE DE CASOS POSITIVOS PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS CON RESPECTO AL TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS POR GRUPO ACADEMICO.

GRADO	CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS	PORCENTAJE
PRIMERO	100	28	28%
TERCERO	100	33	33%
SEXTO	100	58	58%
TOTAL	300	119	40%

Fuente: Cuadro No. 2

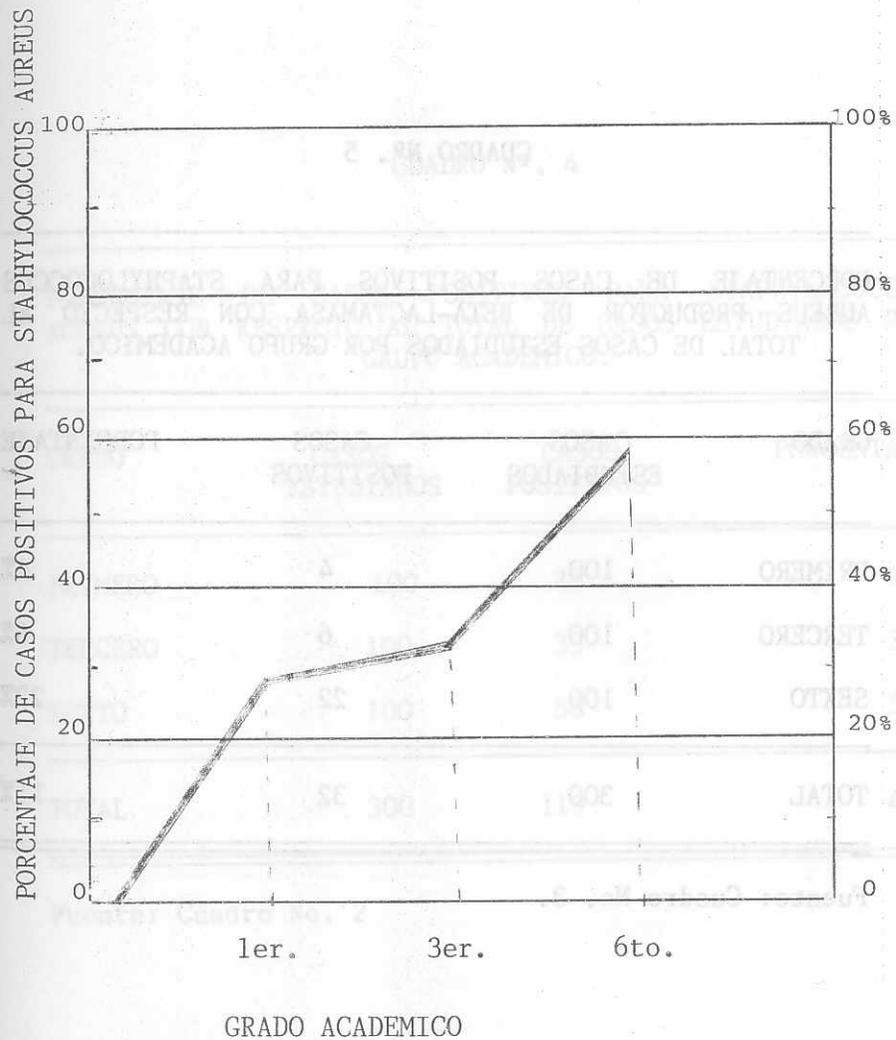
CUADRO N<sup>o</sup>. 5

PORCENTAJE DE CASOS POSITIVOS PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS PRODUCTOR DE BETA-LACTAMASA CON RESPECTO AL TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS POR GRUPO ACADEMICO.

GRADO	CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS	PORCENTAJE
PRIMERO	100	4	4%
TERCERO	100	6	6%
SEXTO	100	22	22%
TOTAL	300	32	11%

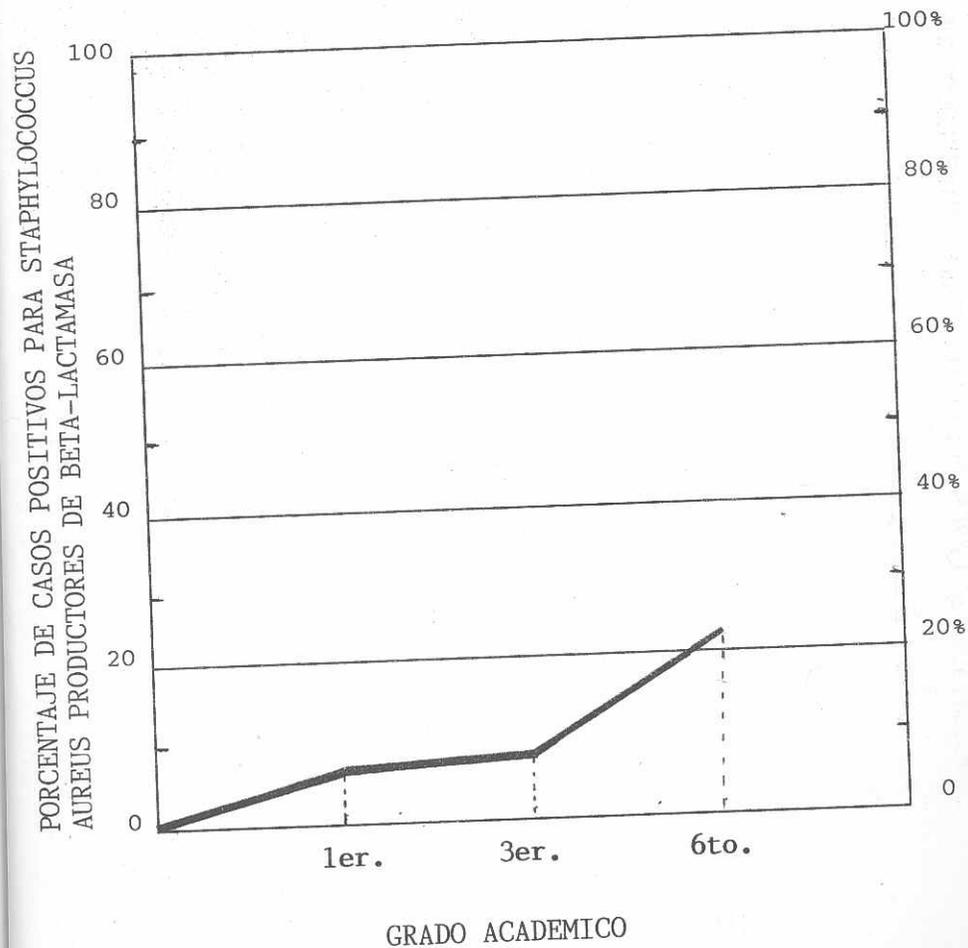
Fuente: Cuadro No. 3.

FIGURA N° 1



Fuente: cuadro No. 4

FIGURA N° 2



Fuente: cuadro No. 5

## ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

### CUADRO N°. 1

Muestra que de los 300 cultivos de mucosa nasal realizados, 202 presentaron crecimiento positivo para microorganismos (estafilococos). Correspondiéndole el menor número de casos (62) a los estudiantes de primer año, siguiendo los de tercer grado (67) y el mayor número de casos positivos (73) al grupo de sexto grado de la carrera. Esto demuestra que existe una alta frecuencia en el estado de portador de estafilococos en general (ya que no se había realizado aún la diferenciación de éstos con la prueba de coagulasa y el medio agar sal manitol es selectivo para todos los estafilococos) como parte de su microbiota local en los estudiantes. No existen estudios anteriores para poder realizar una comparación, pero se esperaba que hubiera habido mayor frecuencia en el crecimiento de microorganismos en la mucosa nasal, siendo parte de su microbiota normal. Muchos cultivos negativos pudieron deberse a una falla en la toma correcta de la muestra, pero la mayoría pudo resultar de un flujo inadecuado de los estafilococos en el interior de la nariz. (23).

### CUADRO N°. 2

Muestra que del total de cultivos positivos (202), los que presentaron positividad a la prueba de coagulasa fueron 119. Lográndose mediante esta prueba la diferenciación de *Staphylococcus aureus* de otros estafilococos; siendo negativos para la prueba de coagulasa 83; considerándose éstos como *Staphylococcus epidermidis* por las características de crecimiento.

El menor número de casos positivos fue de 28 para los estudiantes de primer año, 33 para los de tercer año y de 58 para los del último año de la carrera. En este cuadro se demuestra que existe una alta frecuencia en el estado de portador de *Staphylococcus aureus* en

la mucosa nasal de los estudiantes de medicina (en los tres grupos de estudio) como parte de su microbiota local, si se consideran como portadores permanentes, ya que la literatura mundial reporta que un 15 a 20% de la población no asociada a un hospital son portadores permanentes y de un 70 a 90% son portadores transitorios (20).

No existe mucha diferencia entre los estudiantes de primero y tercero, probablemente porque éstos no han iniciado su práctica hospitalaria en forma constante, como los estudiantes del último grado de la carrera, en donde se encontró el mayor número de portadores asintomáticos; sin embargo en el caso de los de primer año pudo haber influido que se tomó muestra a alumnos de reingreso, que ya tienen varios años de estar en la Facultad y han tenido contacto con estudiantes que ya han asistido a hospitales, y además los catedráticos son Médicos y Cirujanos que también trabajan en hospitales y podrían ser portadores del microorganismo. En el caso de los de tercer año, éstos ya asisten a las prácticas de necropsias en los departamentos de patología de los hospitales y además al hospital San Vicente y de Infectología por lo que ya tienen un mayor contacto con portadores del microorganismo.

#### CUADRO Nº. 3

Muestra que del total de *Staphylococcus aureus* (119) fueron positivos a la prueba de producción de Beta-lactamasa únicamente 32, correspondiéndole por grado académico 4 para el primer año; 6 para tercer año y el mayor número al sexto con 22 casos. Esto nos demuestra que a pesar de ser mayor el número de casos en el último grado de la carrera, no se puede decir que exista una franca resistencia para los antibióticos que en su estructura química poseen el anillo Beta-lactámico, entre los portadores de este microorganismo; ya que la literatura reporta que el 60 a 90% de cepas

aisladas del hospital son resistentes a la penicilina G (20). Esto podría deberse a que estos estudios han sido realizados en pacientes hospitalizados con infecciones por *Staphylococcus aureus* y no en portadores asintomáticos ni en estudiantes de medicina.

El uso indiscriminado de los antibióticos en esos países pudo haber influido para obtener estos resultados.

Otro aspecto importante es que existen cepas tipificadas por fagos del grupo I y III que tienen prevalencia de resistencia a múltiples antibióticos (5,17), tipificadas en el extranjero, lo que no se pudo realizar en esta investigación, y que las cepas encontradas no pudieran coincidir con las del grupo I y III.

#### CUADRO Nº. 4

Muestra el porcentaje de casos positivos para *Staphylococcus aureus* con respecto al total de casos estudiados según grado académico. Correspondiéndole el 28% al primer año, el 33% al tercer año, y el 58% al sexto año. De el total de casos estudiados (300) corresponde el 40% de casos positivos. Lo que demuestra que es en el último grado de la carrera donde es significativamente más alto el estado de portador (casi el doble que en cada uno de los otros dos grados), probablemente debido esto al mayor contacto existente entre el estudiante y los portadores (pacientes) ya sea asintomáticos o sintomáticos, pues el contacto es mayor de persona a persona y está descrito que el índice de colonización aumenta paulatinamente en relación con el tiempo de exposición al contagio del portador, o en forma indirecta con la contaminación ambiental del medio hospitalario.

#### CUADRO Nº. 5

Muestra el porcentaje de casos de *Staphylococcus aureus* productores de Beta-lactamasa, con respecto al total de casos estudiados y por grado académico. Correspondién

doles a los estudiantes de primer año el 4%, para los de tercer año el 6% y para el sexto año el 22%, y del total de casos estudiados (300) el 11%. Esto nos demuestra que es un porcentaje bajo, tomando en cuenta que fue en el grupo de sexto grado de la carrera donde se encontró mayor cantidad de estudiantes portadores de *Staphylococcus aureus*, demostrando ésto que la producción de Beta-lactamasa y por ende la resistencia a las penicilinas por este mecanismo no es lo suficientemente significativa en nuestro medio.

#### Figura No. 1

Nos muestra en forma gráfica, que a medida que aumenta el grado académico en la carrera de medicina, aumenta el porcentaje de portadores asintomáticos de *Staphylococcus aureus*.

#### Figura No. 2

Muestra que también existe un aumento en los casos positivos para *Staphylococcus aureus* productores de Beta-lactamasa a medida que aumenta el grado académico.

## CONCLUSIONES

1. El estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus*, en estudiantes de la carrera de medicina se encuentran en un porcentaje más alto que el de la población en general, si se compara con los reportes de literatura mundial.
2. El estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus*, se encuentra en similares proporciones entre los estudiantes de primer y tercer grado, y significativamente más alto en los estudiantes de sexto grado de la carrera.
3. La práctica hospitalaria en los estudiantes de medicina de USAC condiciona y aumenta el estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* productor de Beta--Lactamasa, a medida que aumenta el grado académico.
4. El porcentaje de *Staphylococcus aureus* con producción de Beta-Lactamasa es más alto en los estudiantes del último grado de la carrera de medicina, pero en nuestro medio está bajo si se compara con los reportes de literatura mundial.

## RECOMENDACIONES

1. Un estudio continuado de este tipo sería de utilidad para determinar si persiste o aumenta la resistencia del *Staphylococcus aureus* entre los estudiantes de medicina de la USAC.
2. Que se realicen cultivos para aislar *Staphylococcus aureus* a los estudiantes de medicina en los hospitales al iniciar su práctica con el fin de determinar los portadores permanentes y darles el tratamiento específico.
3. Un control epidemiológico hospitalario tanto de pacientes como de personal médico y paramédico es de vital importancia para prevenir el brote de epidemias.
4. Se debe ser precavido en el uso indiscriminado de los antibióticos para prevenir la futura resistencia de microorganismos.
5. Se debe aumentar las facilidades en los laboratorios para efectuar tales estudios.

## RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivos principales determinar el estado de portador asintomático en mucosa nasal de *Staphylococcus aureus* productor de Beta-Lactamasa en estudiantes de medicina de la USAC a diferente nivel académico, así como determinar si aumenta la frecuencia a través de su práctica hospitalaria.

La muestra consistió en 300 estudiantes de ambos sexos e inscritos en el ciclo estudiantil 1985. Se formaron tres grupos de estudio de 100 integrantes cada grupo, según grado académico (1er, 3er y 6to. grados).

Mediante hisopo estéril se tomó muestra de secreción de mucosa nasal la que se sembró en medio de agar sal manitol para cultivo y aislamiento de *Staphylococcus aureus*.

Los cultivos que presentaron crecimiento positivo se les realizó la prueba de producción de Beta-Lactamasa mediante la prueba yodimétrica. Con lo que se obtuvo los siguientes resultados: El estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* en los estudiantes de medicina se encuentra en un 40% y el 11% es productor de Beta-Lactamasa; concluyéndose que: Existe un aumento en la frecuencia en el estado de portador asintomático de *Staphylococcus aureus* en estudiantes de medicina de la USAC a medida que aumenta el grado académico y la práctica hospitalaria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Beeson, P. y W. McDermot. Infecciones por estafilococos. En su: **Tratado de medicina interna**. 14a. ed. México, Interamericana, 1979. t.1 (pp. 373-382)
2. Campbell, W. et al. Antimicrobials and infections diseases. In: **Manual of medical therapeutics**. 24th. ed. Boston, Little Brown, 1983. 469p. (pp. 184-203).
3. El control de calidad en bacteriología...disco. En: **Difco technical information**. Detroit, D.L. 1978. 16p.
4. Georgopapadaku, N.H. et al. Penicillin-binding proteins in a *Staphylococcus aureus* strain resistant to specific B-lactam antibiotics. **Antimicrob Agents Chemother** 1982 Jul; 22(1): 172-5
5. González, J.L. Investigación de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina en Guatemala. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1973. 27p.
6. González, O.E. Susceptibilidad in vitro de *Staphylococcus aureus* aislado en pacientes hospitalizados y no hospitalizados. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1979. 40p.
7. Jawetz, E. et al. Cocos piógenos. En: **Manual de microbiología médica**. 10a. ed. México, Manual Moderno, 1983. 586p. (pp. 192-196)

8. Jawetz, E. et al. Flora microbiana normal del cuerpo humano. En: **Manual de microbiología médica**. 10a. ed. México, Manual Moderno, 1983. 586p. (pp. 287-288)
9. Kaplan, M.H. et al. **Staphylococcus aureus**; cellular biology and clinical application. *Am J Med* 1982 Feb; 72(2):248-58
10. Kingdom, J.C. et al. Staphylococcal nasal carriage in medical students with varying clinical exposure. *J Hosp Infect* 1983 Mar; 4(1):75-9
11. Latham, R. **Staphylococcus saprophyticus** B-lactamasa production and disk susceptibility testing for three B-lactam antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1984 Nov; 26(5):670-72
12. Lennette, E. et al. Staphylococcus and aerobic bacteria. **Manual of clinical microbiology**. 2nd. ed. Washington, American Society for Microbiology, 1974. 460p. (pp. 93-95)
13. Litter, M. Quimioterapia; antibióticos de espectro reducido. En su: **Farmacología experimental y clínica**. 6a. ed. Buenos Aires, Ateneo, 1980. 1953p. (pp.1499-1547)
14. O'callaghan, C. Novel method for detection of B-lactamasas by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob Agents chemother* 1972 Apr; 1(4): 283-88
15. Ortiz, C.A. Aislamiento de **Staphylococcus aureus** y bacilos gram negativos en personal médico, paramédico, administrativo y medio ambiente en un hospital departamental. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1977. 30p.
16. Sheagren, J.N. **Staphylococcus aureus**; the persistent pathogen. *N Engl J Med* 1984 May 31; 310(22):1368-73, 1437-42
17. Somenwirth, A.C. et al. Cocos gram positivos y gram negativos. En: **Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico**. 8a. ed. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1983. t.2 (pp. 1500-1507)
18. Somenwirth, A.C. et al. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. En: **Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico**. 8a. ed. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1983. t.2 (pp. 1795-1797)
19. Thronsberry, C. et al. Ampicillin resistance in **Haemophylus influenzae** as determined by a rapid test for Beta-lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 1974 Nov; 6(5): 653-54
20. Turk, M. y W. Stam. Staphylococcal infections. In: Isselbacher, K.J. **Principles of internal medicine**. 9th. ed. New York, McGraw-Hill, 1980. 2073p. (pp608-613)
21. Wilkinson, B.J. et al. Methicillin-resistant septal peptidoglycan synthesis in a methicillin-resistant **Staphylococcus aureus** strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1983 Apr; 23(4):610-13

22. Williams, R.F. Choice of chemotherapy for infection by *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1982 Jan; 9(1):1-3
23. Zierdt, Ch. Long-term *Staphylococcus aureus* carrier state in hospital patients. J Clin Microbiol 1982 Sep; 16(3):517-20

To Go

E. Anguilla

Universidad de San Carlos de Guatemala  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS  
OPCA — UNIDAD DE DOCUMENTACION

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

( C I C S )

CONFORME:

*Catalina de Villatoro*  
Dra. Catalina de Villatoro  
ASESOR.

colegada. No. 4529.

SATISFECHO:



*Soledad Valdez G.*  
Dra. Soledad Valdez  
REVISOR.

APROBADO:

*Francisco Mendizabal*  
Lic. Francisco Mendizabal  
DIRECTOR DEL CICS



*Mario René Moreno Cámara*  
Dr. Mario René Moreno Cámara  
DECANO  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.  
U S A C .

Guatemala, 5 de

*Agosto* de 1985

Los conceptos expresados en este trabajo son responsabilidad únicamente del Autor. (Reglamento de Tesis, Artículo 23).