

870127

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

15
20

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



CONTROL BACTERIOLOGICO EN EL PERSONAL CON ACCESO
A AREAS ESTERILES DE UNA INDUSTRIA FARMACEUTICA

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
Teresa de Jesús Marmolejo Guzmán
Asesor: Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido G.
GUADALAJARA, JALISCO. DICIEMBRE 1989

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
GENERALIDADES	2
2.1 Características morfológicas y fisiológicas	4
2.2 Clasificación	5
2.3 Estructura antigénica celular	8
2.4 Patogenicidad	15
2.5 Características específicas de <u>Streptococcus pyogenes</u> del grupo A. <u>Staphylococcus aureus</u> .	19
2.6 Resistencia y sensibilidad	24
CAPITULO III	
MATERIAL Y METODOS	28
3.1 Origen de la muestra	28
3.2 Toma de muestra	28
3.3 Aislamiento e identificación	29
3.4 Pruebas bioquímicas	29
3.5 Antibiograma	36
3.6 Esquema del estudio realizado	40
CAPITULO IV	
RESULTADOS	41

CAPITULO V

CONCLUSIONES

45

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

47

CAPITULO I

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Actualmente la Industria Farmacéutica está obligada a desarrollar métodos básicos de esterilidad y asepsia, así como llevar un estricto control de sus resultados, a fin de garantizar la pureza de sus productos.

Las áreas estériles de un laboratorio Farmacéutico están constantemente expuestas a dejar de serlo, por la variedad de factores que se conjuntan para que éso suceda.

Uno de ellos es el factor humano que se considera como el principal debido a la gran variedad de microorganismos que puede portar y diseminar sobre las áreas productivas y el producto.

Existen controles microbiológicos basados algunos en estudios clínicos del personal que labora en las áreas estériles o que tienen acceso a ellas.

El estudio clínico realizado en éste trabajo, como un control, fué por medio de exudados faríngeos tratando de cuantificar la contaminación que acarrea el hombre a dichas áreas estériles.

Conociendo los métodos para la identificación Bacteriológica y partiendo de una muestra de exudado faríngeo y luego de haber establecido el método más accesible que se llevó a cabo de acuerdo a las condiciones que mantiene el laboratorio de bacteriología, se obtuvieron porcentajes de los contaminantes provenientes del personal que labora en las áreas estériles.

CAPITULO II

GENERALIDADES

GENERALIDADES.

Existen numerosos datos disponibles sobre las propiedades de las bacterias y muchos de ellos se basan en las observaciones, en el manejo de las colonias obtenidas y - su identificación, además de la aplicación de los conocimientos que tenga el laboratorista sobre Bacteriología.

El conocimiento de la flora normal y de las características morfológicas de los microorganismos que pueden - tener posibilidad etiológica simplifican el trabajo.

En el presente estudio el procedimiento de laboratorio está planeado para detectar virtualmente los microorganismos probablemente patógenos que se encuentran asociados con infecciones de vías respiratorias superiores siendo estos en orden de incidencia: Streptococcus pyogenes-Grupo A beta-hemolítico y Staphylococcus aureus y que además son los agentes que con mayor frecuencia se encuentran contaminando las áreas estériles de la Industria Farmacéutica. Para lo cual el método bacteriológico más importante es el cultivo de exudado faríngeo y la información que proporciona ayuda grandemente al médico en el tratamiento adecuado del paciente, dado que ofrece una información de gran utilidad para el diagnóstico diferencial de afecciones del tracto respiratorio superior tales como: Inflamación de garganta de tipo estreptocócico o estafilocócico descubrimiento de focos infecciosos de algunas enfermedades como la escarlatina, fiebre reumática, glomerulonefritis aguda y también en la detección de portadores de microorganismos patógenos. Por otra parte si los frotis - o el cultivo son negativos para bacterias patógenas, el clínico puede fundamentadamente atribuir el origen de la

afección a otras causas: Virales, etc.

2.1 Características Morfológicas y fisiológicas.

Los estreptococos son microorganismos de forma esférica de 0.8 a 1.0 micras de diámetro, gram positivo; es posible encontrarlos formando cadenas cuando se trata de procesos patológicos o en forma individual o en pares en tejidos infectados.

Muchas cepas de Estreptococos producen una microcápsula, la cual es demostrable en cultivos jóvenes de 2 a 4 horas.

Son inmóviles; sin embargo podemos encontrar excepciones en algunos miembros del grupo D. Específicamente Streptococcus faecium el cual presenta movilidad.

Estos microorganismos son aerobios y anaerobios facultativos.

Son sensibles a la variación del pH y a la temperatura. Crecen en un rango de temperatura muy amplio que abarca de 12°C a 50°C, siendo la óptima 37°C. Una temperatura de 60°C durante 30 minutos mata a la mayoría de las especies, mientras que en condiciones de frío, sobreviven mejor.

Los estreptococos no tienen capacidad de formar esporas.

Tienen capacidad de fermentar varios azúcares como la glucosa, almidón, hipurato de sodio, dextrina y otros.

La mayoría de ellos utilizan la lactosa y sacarosa como fuente de energía y sus principales metabolitos son el

ácido láctico fórmico, acético y etanol.

Se les considera organismos exigentes ya que desarrollan mejor en medios que contengan sangre.

Los estafilococos son cocos gram positivos, dispuestos en racimos. Aerobios. No tienen capacidad de formar cápsula ni esporas.

Son inmóviles. Desarrollan en medios usuales produciendo colonias características en agar sangre.

Los estafilococos patógenos elaboran una enzima que es capaz de coagular el plasma. Constituyendo ésto una prueba específica llamada: Prueba de la coagulasa.

La fermentación del manitol es característica de los microorganismos patógenos, positivos a la coagulasa.

La prueba de la catalasa es muy útil para distinguir los estafilococos de los estreptococos, siendo estos negativos a la prueba de la catalasa.

2.2 Clasificación.

Se han propuesto numerosas clasificaciones para los estreptococos en base a sus distintas propiedades:

Acción hemolítica, propiedades metabólicas y actividad fisiológica y a sus reacciones serológicas de aglutinación y precipitación.

En base a su acción hemolítica en placas de agar sangre:

a) Hemólisis alfa. Cuando se presenta una zona de lisis parcial de los eritrocitos alrededor de la colonia en la placa de agar sangre, acompañada frecuentemente de un tono verdoso por la formación de un producto reducido de la hemoglobina.

b) Hemólisis Beta. Presenta una zona de lisis total de los eritrocitos alrededor de la colonia apareciendo esta zona transparente.

c) Hemólisis gama. No se presenta hemólisis, por lo tanto no hay decoloración ni pigmentación alrededor de la colonia.

La clasificación en base a sus propiedades metabólicas y actividad fisiológica, los estreptococos pueden dividirse en grandes grupos:

a) Grupo piógeno: Incluye al Streptococcus pyogenes y otras cepas beta-hemolíticas y no hemolíticas causantes de enfermedades agudas y mortales.

b) Grupo viridans: Incluye cepas alfa-hemolíticas y no-hemolíticas, entre ellas S. acidominimus, S. mutans S. Cellivanus, S. mitis.

c) Grupo enterococo: Incluye S. faecalis, S. faecium. Se encuentran en la flora normal del tracto gastrointestinal del ser humano.

La clasificación serológica o de Lancefield se basa en la presencia de un antígeno específico del grupo y especie en los Estreptococos hemolíticos. Por medio de reacciones de precipitación específica, la doctora Rebeca

Lancefield los dividió en 13 grupos designados con una letra de la A a la O, exceptuando la I y la J, pero considerándose a los primeros cuatro grupos como los de mayor importancia médica.

Especies de Estreptococos que comprenden cada grupo antigénico de Lancefield.

Grupo antigénico de Lancefield	Especies de Estreptococo que comprende.
A	<u>S. pyogenes</u>
B	<u>S. agalactiae</u>
	<u>S. equisimiles</u>
C	<u>S. zooepidemicus</u>
	<u>S. equi</u>
	<u>S. dysgalactiae</u>
D	<u>S. Bovis</u> <u>S. Gallinarum</u>
	<u>S. equinus</u> <u>S. avium</u>
	<u>S. faecalis</u> <u>S. Casseliflavus</u>
	<u>S. faecium</u> <u>S. malodoratus</u>
F	<u>S. anginosus</u>
G	<u>S. Canis</u>

CLASIFICACION DE LOS ESTAFILOCOCOS.

De acuerdo con la prueba de la coagulasa.

- S. aureus - - - coagulasa positiva
- S. epidermidis -- coagulasa negativa.

Esta clasificación es muy usada ya que tiene la ventaja de indicar inmediatamente si el organismos en estu -

dio es patógeno o no.

2.3 Estructura antigénica celular.

La estructura antigénica de la célula estreptocócica está compuesta por las siguientes sustancias:

a) Cápsula de ácido hialurónico.

El ácido hialurónico es una sustancia capsular producida fundamentalmente por especies estreptocócicas del grupo A y C. El ácido hialurónico no es inmunogénico debido a que su estructura química no puede diferenciarse de la del hialuronato presente en la sustancia intersticial del tejido conjuntivo. En algunos estreptococos del grupo C, la cápsula del ácido hialurónico es un factor de virulencia en ciertas infecciones animales.

Esta estructura es fácilmente demostrable en cultivos jóvenes.

b) Proteínas de la pared celular. (M, R y T)

Es de naturaleza proteica y está situada en la superficie celular bajo la forma de una serie de proyecciones semejantes a pelos, probablemente de naturaleza fimbria.

La proteína M de la pared celular estreptocócica es el principal factor de virulencia de los Estreptococos beta-hemolíticos del grupo A. Permite a la célula bacteriana inhibir la fagocitosis. Se ha demostrado que los anticuerpos producidos en un paciente a una proteína M específica confieren inmunidad perdurable contra la infección proveniente de esa cepa estreptocócica.

Sobre la base de las diferencias en su proteína M se han separado los miembros de los estreptococos del grupo A en 50 tipos diferentes.

La sustancia T es una serie de proteínas inmunológicamente tintas, resistentes a enzimas proteolíticas como pepsinas y la tripsina.

Este antígeno no guarda relación con la virulencia de los estreptococos. Se obtiene por digestión proteolítica de los estreptococos y permite la diferenciación de ciertos tipos.

La proteína R es un antígeno de superficie resiste a la digestión péptica pero no a la tripsina, lo que lo diferencia de los antígenos anteriores.

c) hidratos de carbono de la pared celular.

Los estreptococos se han dividido en grupos desde la A hasta O sobre la base de las diferencias en la capa de hidratos de carbono de la pared celular.

En el grupo A esta capa está compuesta por polímeros de N- acetilglucosamina y ramnosa y se le denomina sustancia "C", mientras que en el grupo C está formado por la ramnosa N-acetilgalactosamina. Los estreptococos del grupo B suelen contener dos polisacáridos en la pared celular: La sustancia C específica del grupo y un polímero parecido al capsular, denominado sustancia "S".

d) Mucopéptido de la pared celular.

El mucopéptido de la pared celular de los Estreptoco

cos consiste en unidades que se repiten de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico unidas por puentes peptídicos. Se ha demostrado que esta capa es antigénica y capaz de producir fiebre, necrosis dérmica, carditis y lisis de hematies de conejo. Su toxicidad es similar a la de las endotoxinas de las bacterias gram negativas.

e) Membrana celular.

Los componentes antigénicos de la membrana celular reaccionan en forma cruzada con los tejidos cardíaco, renal y conectivo. Como en el caso de muchos otros antígenos no se ha podido establecer una relación directa entre el antígeno de la membrana y un estado patológico.

Los estreptococos elaboran in vivo e in vitro diversos productos extracelulares. Se cree que muchos de ellos son importantes en la patogenicidad, así como el diagnóstico de las infecciones producidas por estas bacterias.

a) Toxina eritrogénica:

En algunas infecciones de las vías respiratorias superiores, la cepa estreptocócica infecciosa es capaz de producir una toxina eritrogénica extracelular. Esta in vitro es citotóxica en cultivo de tejidos, mientras que in vivo, en individuos no inmunizados produce una erupción (exantema) que es característico de la escarlatina. La toxina eritrogénica es elaborada solamente por estreptococos lisogénicos.

b) Hemolisinas:

La actividad hemolítica de muchas cepas de estreptococos se debe a la producción de dos hemolisinas extracelulares denominadas estreptolisinas O (SLO) y estreptolisina S (SLS).

La estreptolisina O es oxígeno-lábil y su actividad depende de condiciones reductoras. Es inmunogénica y se utiliza ampliamente en el descubrimiento de anticuerpos de antiestreptolisinas O en el diagnóstico de las infecciones estreptocócicas.

La estreptolisina S es oxígeno-estable y es responsable de la zona de beta-hemólisis alrededor de las colonias de *Streptococo* en agar sangre. La estreptolisina S al igual que la estreptolisina O es capaz de lisar hemates y leucocitos de mamíferos.

Factores de Propagación.

En las infecciones estreptocócicas primarias la cepa infecciosa es a menudo capaz de propagarse al tejido circundante. Esta capacidad probablemente se deba a la formación de productos extracelulares que disuelven la matriz del tejido conectivo y al material coagulado que se acumula como consecuencia de reacciones inflamatorias. Los factores de propagación son: la hialuronidasa, la proteínasa, la estreptocinasa y las nucleasas.

a) Hialuronidasas.

Es una enzima que desdobra el ácido hialurónico, -- constituyente importante de la sustancia intercelular del tejido conjuntivo; así pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectantes (Factor -

de diseminación). Son antigénicas y específicas para cada bacteria o tejido del cual se obtengan. La hialuronidasa purificada se emplea en el tratamiento médico para facilitar la diseminación y la absorción de líquidos inyectados en tejidos.

b) **Proteinasa.**

Es una enzima proteolítica liberada por muchos estreptococos de el grupo A. Esta proteinasa desdobla el sulfato de condroitina y el ácido hialurónico del tejido conectivo. Se ha demostrado que ésta enzima purificada e inyectada en animales susceptibles causa extensas lesiones del corazón.

c) **Estreptocinasa.**

Es producida por muchas cepas de estreptococo beta-hemolítico; provoca la transformación del plasminógeno del suero humano en plasmina, enzima proteolítica activa que digiere a la fibrina y otras proteínas. La estreptocinasa se ha administrado por vía intravenosa en el tratamiento de embolias pulmonares y de trombosis venosas.

d) **Nucleasas.**

Origina la acumulación de exudado nuclear proveniente de leucocitos muertos o lesionados en el sitio de la infección del huésped. Los estreptococos virulentos pueden producir ciertas nucleasas tales como la ribonucleasa y la desoxirribonucleasa que digieren el ADN y el ARN del exudado facilitando de este modo la propagación de los estreptococos.

La estructura antigénica de la célula estafilocócica está compuesta por las siguientes sustancias:

La pared celular consta de una capa externa rica en proteínas y de la capa interna del mucopéptido característica de las bacterias. Aunque la estructura antigénica de S. aureus es compleja, los antígenos tienen poco valor para identificar los microorganismos. Sin embargo, es probable que alguno de los antígenos externos sean importantes en la patogenia.

La capa externa de la pared celular contiene una sustancia llamada proteína A parecida a la proteína M de los estreptococos ya que como esta se encuentra en la superficie incluso en las células encapsuladas. Ha sido claramente demostrado que la proteína A es antifagocítica, y que posee la capacidad única de interactuar con la región Fc de la inmunoglobulina G (IgG) interfiriendo así con la opsonificación por parte de los anticuerpos citofílicos.

En la superficie de las células de S. aureus existen lugares específicos receptores de fago. En la tipificación de cepas para estudios epidemiológicos tienen gran valor los patrones de susceptibilidad que implican más de 20 fagos.

De los cuatro grupos principales identificables por tipificación de fago, las cepas de los grupos I y III producen con más frecuencia infecciones hospitalarias con estafilococos resistentes a los antibióticos.

Los estafilococos patógenos producen una gran variedad de sustancias extracelulares importantes, algunas de -

las cuales se describen a continuación. Ciertas exotoxinas son producidas más fácilmente en atmósferas que contienen una concentración elevada (30%) de CO₂.

a) Coagulasa.

Enzima que coagula el plasma sanguíneo.

b) Estafilocinasa.

Enzima que degrada los coágulos de fibrina.

c) Hemolisinas (Toxinas)

Todas son hemolíticas. Existen cuatro diferentes: alfa, beta, gama, y sigma.

Alfa.- Espectro hemolítico poco amplio, (limitado a los eritrocitos de algunas especies animales). Destruye muchas células de diferentes mamíferos. Dermonecrotizante. Letal.

Beta.- Fosfolipasa (esfingomielinasa C). Espectro hemolítico poco amplio. Letal.

Gama.- Citotóxico para otras células de mamíferos.

Sigma.- Espectro hemolítico amplio. Destruye muchas células de diferentes mamíferos.

d) Leucocidina.

Mata los leucocitos. Dos proteínas interactuantes; termolábil.

e) Enterotoxina.

Emética. Termostable. (100°C, 30 min.).

f) Exfoliatina.

Exfoliación de la piel del lactante. Producida tan solo por microorganismos de fago grupo II. Llamada también factor de diseminación.

g) Hialuronidasa.

Enzima que degrada el ácido hialurónico.

h) Lipasas.

Enzimas que degradan los lípidos.

i) Proteinasas.

Enzimas que degradan las proteínas.

j) Penicilinasas.

Enzima que desdobla el anillo lactam-beta de la penicilina.

* Todos los productos enumerados son proteínas.

2.4 Patogenicidad.

Más del 90% de las enfermedades estreptocócicas son causadas por estreptococos beta-hemolíticos del grupo A. Las enfermedades estreptocócicas se dividen en dos cate -

gorias: Infecciones supurativas o primarias e Infecciones no supurativas, es decir, las que son complicaciones de infecciones estreptocócicas primarias.

a) Infecciones supurativas.

A menudo un grupo de enfermedades estreptocócicas supurativas comienzan como una faringitis aguda que puede ser complicada por meningitis, otitis media o neumonía.

En el otro grupo se encuentran la fiebre puerperal e infecciones cutáneas como el impétigo, la celulitis y erisipela.

+ Impétigo:

Enfermedad altamente coartagiosa que afecta sobre todo a los niños. La infección comienza como pequeñas ampollas en la piel que pueden propagarse a zonas adyacentes. Las ulceraciones quedan cubiertas por costras. Si la cepa infecciosa produce una toxina nefrótica se puede originar como complicación una glomerulonefritis aguda.

+ Fiebre puerperal:

Se presenta cuando el estreptococo se introduce en el útero después del parto, produciendo septicemia y fiebre originada a partir de alguna herida causada en el endometrio durante la labor de parto.

+ Erisipela:

Es una inflamación aguda de la piel o de las mucosas que se propaga por vía linfática. La bacteria entra por la piel produciendo edema masivo indurado cuyos márgenes avanzan rápidamente.

En las infecciones supurativas la virulencia del -- estreptococo está relacionada directamente con la presencia de la proteína M.

b) Enfermedades no supurativas.

Las complicaciones no supurativas de las infecciones estreptocócicas primarias son la escarlatina, la fiebre reumática y el eritema nudoso. Aún está en duda su causa exacta, pero una teoría sostiene que una toxina o un factor tóxico afecta directamente al tejido, en tanto que otra afirma que es el sistema inmunitario del huésped el que lo daña.

+ Escarlatina:

Esta enfermedad se caracteriza por una infección local faríngea y un exantema generalizado. Está producido por una toxina eritrogénica que la producen casi todas las cepas del grupo A y algunas de los grupos C y G.

+ Fiebre reumática:

Es la secuela más grave de las infecciones por estreptococos hemolíticos debido a que causa lesiones en válvulas y músculo cardíaco. El inicio de esta enfermedad va precedido a menudo de infecciones estreptocócicas del -- grupo A.

Los estreptococos del grupo A se caracterizan por producir las llamadas infecciones locales; entre las más importantes se encuentran: Faringitis y pioderma estreptocócica.

El esteptococo del grupo B, es también importante --

productor de enfermedades, entre las que podemos citar: Sepsis neonatal, meningitis en niños o colonizando el -- tracto genitourinario de mujeres embarazadas. Tiene im - portancia en el campo veterinario ya que se le considera el principal causante de mastitis en ganado vacuno y de - diversas infecciones en otros animales.

Al estreptococo del grupo C se le atribuye enfermeda des tales como: Amigdalitis, neumonia, otitis media, ade nitis, celulitis, sepsis puerperal, bacteremia, endocardi tis bacteriana, artritis, etc.

Las infecciones por S. aureus se caracterizan por lo calización, supuración, y necrosis tisular con cicatriza ción resultante. La lesión más frecuente, el furúnculo, - actúa a menudo como fuente de diseminación hematogena de - microorganismos con producción subsiguiente de bacterie - mia y de enfermedades como: osteomielitis y neumonia.

La frecuencia del estado de portador intermitente se estima en 30 a 50%. El hecho de que muchos individuos - puedan transportar y eliminar el S. aureus patógeno du - rante períodos prolongados indica que ellos y la mayoría - de sus contactos poseen un grado substancial de inmunidad. Es tan solo en ausencia o debilitamiento de las defensas normales que aumentan las probabilidades de invasión por - parte del S. aureus. Así pues, ocurre infección con más - frecuencia a nivel de una lesión local como quemadura, - abrasión u otro tipo de herida. Las anormalidades o pade cimientos que producen inmunodepresión generalizada y pre disponen a infección estafilocócica incluyen diabetes, - leucemia, insuficiencia renal, terapéutica inmunosupreso - ra y enfermedades por inmunodeficiencia que implican de - fectos en la respuesta de anticuerpo humoral.

Por razones todavía desconocidas algunos individuos ostenciblemente sanos experimentan episodios repetidos de furunculosis a veces durante largos años.

La osteomielitis aguda causada por S. aureus es más frecuente en varones jóvenes. En esta enfermedad, los microorganismos son transportados por la corriente sanguínea casi siempre a partir de una lesión local y se localizan en las estructuras óseas, de preferencia en la metafisis de los huesos en crecimiento.

Actúa como factor predisponente el traumatismo local o la tensión ejercida sobre el hueso.

S. aureus produce con frecuencia endocarditis bacteriana, hallándose implicado en ocasiones S. epidermidis. Es mayor el riesgo de tales infecciones entre pacientes sometidos a cirugía cardíaca, y en toxicómanos que utilizan agujas contaminadas.

2.5 Características específicas de Streptococcus pyogenes del grupo A y de Staphylococcus aureus.

Streptococcus pyogenes. Denominado "Estreptococo del grupo "A" es la especie patógena más importante para el hombre ya que produce el 95 por 100 de todas las infecciones estreptocócicas.

Ha sido siempre causa constante de enfermedades graves en el hombre. Pocos microorganismos elaboran una variedad más amplia de toxinas, o producen un espectro más extenso de lesiones y secuelas. Descripciones muy claras de las típicas entidades clínicas causadas por los estreptococos, escarlatina y erisipela aparecieron en la literatura

tura médica antes de Billroth (1874) las cuales se referían a "cadenas de microorganismos globulares" en las lesiones de erisipela y Fehleisen (1882) reprodujo erisipela en voluntarios con cultivos puros de estreptococos. Fueron también como entidades clínicas hace más de un siglo la fiebre reumática y la glomerulonefritis, secuelas graves de la infección estreptocócica, y la fiebre puerperal tan temida en un tiempo por su elevada mortalidad. Los ensayos plenos de interés de Oliver Wendell Holmes y Semmelweis sobre la naturaleza infecciosa de la fiebre puerperal figuran ya como clásicos de la literatura médica y desde luego bien merecen la atención de todo estudiante de medicina.

Streptococcus pyogenes ya no es el germen patógeno tan temido durante las primeras décadas de este siglo debido en gran parte al advenimiento de antibióticos eficaces. Cabe sin duda destacar que en los países desarrollados las infecciones estreptocócicas y sus secuelas son hoy no solo menos frecuentes, sino menos graves que durante el último siglo. Antes de la introducción de la quimioterapia eficaz, la enfermedad estreptocócica con sus secuelas figuraba con la tuberculosis y sífilis como las tres enfermedades infecciosas más importantes y graves en E.U.A.

Identificación de estreptococos del grupo A.

Es importante llevar a cabo la identificación precisa de los estreptococos beta-hemolíticos del grupo A, dado que requiere de pronta terapia de los individuos infectados, no solo para permitir el control de la infección primaria (faringitis aguda, piodermatitis, escarlatina, erisipela o celulitis), sino para prevenir complicaciones

potencialmente graves como fiebre reumática valvulitis - y endocarditis reumática, y glomerulonefritis aguda o crónica. Los estreptococos aparecen como diminutos cocos - Gram positivos que forman largas cadenas.

Susceptibilidad a la bacitracina.- en 1953 Maxted - halló que el desarrollo de los estreptococos del grupo A era inhibido por un bajo contenido (0.02 a 0.04 unidades) de bacitracina en discos de papel colocados en un medio de agar sangre, pero la mayoría de los otros estreptococos no eran inhibidos. El uso de discos "A" con una baja concentración de bacitracina es el método más comúnmente empleado en los laboratorios clínicos para la identificación presuntiva de estreptococos del grupo A. Si bien el empleo de los discos "A" es bastante práctico para la identificación de estreptococos del grupo A, una proporción estimada en 5 a 15% de los estreptococos susceptibles a la bacitracina aislados de fuentes clínicas, pueden pertenecer a grupos distintos del grupo A. Por ejemplo, un 6% de los estreptococos beta-hemolíticos del grupo B y un 7.5% de los C y G son sensibles a la bacitracina. Esta proporción relativamente alta de resultados falsos positivos, se puede reducir evaluando con cuidado el tipo de hemólisis producida por los aislamientos. Aproximadamente el 7.5% de los estreptococos alfa-hemolíticos son también susceptibles a la bacitracina. La posterior-diferenciación se puede realizar determinando características adicionales. La mayoría de los médicos aceptan este porcentaje de resultados falsos positivos y tratan a los pacientes de acuerdo con los síntomas.

Dado que muchas cepas de estreptococos sensibles a la bacitracina de grupos distintos al A exhiben zonas de inhibición de 10 mm o menos, se ha sugerido que sólo una

zona de inhibición de desarrollo de más de 10 mm identifica a los estreptococos del grupo A. Este criterio no es universalmente aceptado. Asimismo, 2 a 7% de las pruebas con discos A pueden dar resultados falsos negativos. Esto constituye potencialmente un problema más serio que los resultados falsos positivos, ya que una infección por estreptococos del grupo A puede no ser reconocida y el paciente queda sin recibir el tratamiento adecuado. Es práctica común en muchos laboratorios, particularmente los de los consultorios médicos, colocar los discos "A" directamente en las placas de cultivo primario. Se debe enfatizar que la técnica del disco de bacitracina ha sido concebida para ser utilizada sólo en cultivos puros y no para la identificación de estreptococos que desarrollan en cultivo mixto.

El examen de hisopados de garganta mediante la técnica directa de anticuerpo fluorescente, es utilizada en muchos laboratorios para la rápida identificación de estreptococos del grupo A.

El patógeno Staphylococcus aureus es un miembro temporal o transitorio de la flora microbiana. Estos cocos gram positivos, miembros de la familia Micrococcaceae, recibieron el nombre genérico de Staphylococcus debido a su tendencia a agruparse en racimos.

Es la causa más común de infecciones de las heridas quirúrgicas y traumáticas y de las infecciones superficiales de la piel y en la nariz. Una lesión estafilocócica frecuente y característica es el furúnculo o divieso de la piel. Sin embargo, los microorganismos pueden invadir o infectar virtualmente cualquier tejido y producir enfermedades diversas como osteomielitis, bacteriemia, neumonía-

y enterocolitis. S. aureus induce en forma característica la formación de grandes cantidades de pus y figura en primer lugar entre las bacterias piógenas.

Los estafilococos han sido reconocidos como causa de infecciones piógenas desde los primeros tiempos de la -- microbiología. Ya en 1870, Koch, Pasteur y otros micro - biólogos pioneros describieron estos cocos Gram positivos en el pus. En la década de los 40 cuando ya se dispuso - de penicilina se concibieron grandes esperanzas en el sen tido de que quizá estaba ya a la vista el fin de las in - fecciones estafilocócicas. Por desgracia, no transcurrió mucho tiempo sin que surgieran cepas de estafilococos resistentes a penicilina, al principio en el ambiente hospi - talario y después en la comunidad. Pronto resultó eviden - te que los estafilococos tenían mayor capacidad para desa - rrollar resistencia a los antibióticos que ningún germen - patógeno.

Identificación de estafilococos.-

Las técnicas de identificación y diferenciación de - especies para los estafilococos, varía entre los laborato - rios, pero generalmente plantean escaso problema. Las - colonias relativamente grandes, elevadas, cupuliformes y - opacas de consistencia cremosa a las 24 hrs. de incuba - ción en un medio primario son fáciles de reconocer y los - racimos de cocos Gram positivos provenientes de cultivos - en medios líquidos son sumamente característicos.

En ocasiones, las colonias de estafilococos y micro - cocos en medios de agar, se pueden confundir con las de - algunos estreptococos.

La diferenciación se lleva a cabo rápida y fácilmente mediante la prueba de la catalasa. Los estafilococos y micrococos descomponen el peróxido de hidrógeno (catalasa positivos), pero no los estreptococos. Las cepas blancas no pigmentadas de estafilococos o micrococos pueden también confundirse con levaduras en placas de cultivo primario y se deben diferenciar examinando microscópicamente en preparado teñido con la técnica de Gram.

La mayoría de los laboratorios clínicos no van más allá de diferenciar Staphylococcus aureus, S. epidermidis y Micrococcus sp.

De la familia Micrococcaceae, sólo el S. aureus produce coagulasa y la prueba de la coagulasa se utiliza en la mayoría de los laboratorios como la característica de identificación definitiva de esta especie. La capacidad para producir ácido a partir de manitol y reducir telurito a telurito libre son dos características exclusivas del S. aureus empleadas por muchos microbiólogos para identificar esta especie. La prueba de la coagulasa se usa más ampliamente para diferenciar S. Aureus de S. epidermidis.

La producción de coagulasa está generalmente asociada con virulencia potencial. La mayoría de las cepas virulentas de S. aureus producen también beta-hemolisinas; sin embargo ésta es una característica variable, y la presencia o ausencia de hemólisis beta en agar sangre no se puede utilizar para identificar esta especie o predecir su virulencia.

2.6 Resistencia y Sensibilidad.

Alexander Fleming tiene el mérito de haber descubier-

to la penicilina. Un día de otoño de 1928, observó por casualidad que un hongo contaminante no sólo estaba desarrollando en una placa de cultivo que había sido dejada abierta por descuido sino que las colonias de estafilococos adyacentes al hongo estaban sufriendo lisis. Fleming dedujo correctamente que el hongo, identificado posteriormente como Penicillium notatum, producía una sustancia bacteriolítica difusible, capaz de matar a los estafilococos. El antibiótico desconocido de Fleming fué más tarde llamado penicilina, anunciando el advenimiento de la moderna era de los antibióticos.

En verdad, el fenómeno de antibiosis ya había sido observado y registrado en dos ocasiones, unos 40 años antes del descubrimiento de Fleming. Alrededor de 1880, Lord Lister, buscando nuevos antisépticos, observó que el desarrollo bacteriano era inhibido en algunas matraces de cultivos contaminado con hongos. Fleming afirmó más tarde: "Si el destino hubiera sido benévolo, la historia de la medicina habría cambiado y Lister podría haber vivido para ver lo que siempre buscaba, un antiséptico no tóxico". En 1889, Doehle publicó un trabajo junto con una fotografía que ilustraba la acción antibiótica de un microorganismo que denominó Micrococcus anthracotoxicus debido a su acción lítica sobre colonias de bacilos de ántrax que desarrollaban en la misma placa en cultivo mixto. El mismo Pasteur debe también haber reconocido este fenómeno de antagonismo bacteriano al acuñar la frase "La vida se opone a la vida".

Empero, puede haber sido un anónimo médico nómada -- del Antiguo Egipto quien, al curarse de una dolencia comiendo pan mohoso, fuera el primero en descubrir la acción

de los antibióticos. La hogaza de pan de trigo fué sólo una de las tantas sustancias terapéuticas conocidas por el hombre antiguo como efectiva contra enfermedades inflamatorias.

Más de una década transcurrió antes de que el descubrimiento de Fleming tuviera alguna aplicación práctica en el tratamiento de enfermedades infecciosas, si bien la inyección de sustancias químicas antimicrobianas en seres humanos no era un concepto nuevo.

Paul Ehrlich, luego de muchos años de estudio sobre el efecto antibiótico de los colorantes de anilina, descubrió su "bala mágica", el salvarsán, en 1912. Esta fué la primera sustancia inyectable efectiva in vivo contra la espiroqueta de la sífilis.

La investigación de la penicilina fue estimulada por el descubrimiento de Domagk en 1932 del Prontosil, un análogo químico, que más tarde se comprobó que era similar a la sulfonamida. En 1939 Florey y Chain desarrollaron una técnica práctica por la cual se podía obtener extractos antimicrobianos de penicilios en cantidad y con la pureza suficientes como para poder ser utilizados en seres humanos.

Los estreptococos como es conocido tienen como fármaco de elección la penicilina, pero puede recurrirse a la eritromicina si el paciente es alérgico a penicilina. Por otra parte como desarrolla resistencia medicamentosa a tetraciclinas y sulfamídicos, no deben emplearse estas drogas. Se estudia el uso del trimetoprim-Sulfametoxazol contra estos microorganismos.

Para el tratamiento de estafilococos se recomienda penicilina G a las cepas susceptibles a este antibiótico; por desgracia, la mayoría, de las cepas producen penicilinas y son por lo tanto resistentes a las penicilinas G y V y a la ampicilina. Ahora bien casi todas las cepas son susceptibles a meticilina, cloxacilina y cefalotina.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

3.1 Origen de la muestra.

Para la realización del presente estudio se tomaron 100 muestras de exudado faríngeo del personal que labora o que tiene acceso a las áreas estériles en una Industria Farmacéutica.

Son evaluados todos los empleados que están en contacto directo con el producto, además de los técnicos de control de calidad que tienen acceso a las áreas como son: Microbiólogos e Inspectores de Proceso.

3.2 Toma de muestra.

Se realizó preferentemente por la mañana o de no ser así la muestra fué tomada 5 horas después de haber ingerido alimento. Si se toma por la mañana el paciente deberá presentarse en ayunas y con aseo bucal. Invitar al paciente a relajarse, con respiración profunda se le indicará abrir la boca, de tal forma que deje visible el área faríngea y anexos, para poder observar así las condiciones físicas de dicha área, para enseguida pasar a la toma de muestra: introduciendo dos hisopos estériles, que tocarán directamente la parte afectada, procurando no tocar en el camino la "campanilla", lengua y paredes bucales para no contaminar la muestra tomada y no dar resultados falsos positivos.

De los dos hisopos que contienen la muestra uno es destinado a la elaboración del frotis y el otro para el cultivo.

3.3 Aislamiento e Identificación.

Se realizó la siembra en agar sangre por medio de la técnica de aislamiento por estrias. Dicho agar contenía sangre desfibrinada estéril de carnero en una concentración de 5%. Simultáneamente y por el mismo método de aislamiento se inocularon placas de manitol sal-Agar.

Al término del periodo de incubación que fue de 37°C en atmósfera normal durante 24 hrs. Se revisaron las placas sembradas utilizando el agar sangre para observar la morfología colonial y la actividad hemolítica de los estreptococos y estafilococos, importantes para una identificación presuntiva. A las colonias sospechosas se les realizó la tinción por la técnica de Gram en busca de cocos gram positivos dispuestos en cadenas o en racimo según correspondieran a sus géneros.

En el Manitol sal Agar se observó la formación de un halo amarillo en el agar circundante, que indica la producción de ácido a partir de manitol.

Posteriormente se llevaron a cabo las pruebas bioquímicas necesarias que permitirían su total identificación, las cuales se describen a continuación.

3.4 Pruebas Bioquímicas.

SUSCEPTIBILIDAD A LA BACITRACINA.

El uso de discos "A" con una baja concentración de bacitracina (0.02 a 0.04 unidades) es el método más comúnmente empleado para la identificación presuntiva de estreptococos del grupo A.

La bacitracina es un antibiótico que inhibe selectivamente el desarrollo de S. pyogenes a muy bajas concentraciones.

La bacitracina es hidrosoluble y difunde fácilmente en un medio de agar. Por lo tanto, para la prueba de -- susceptibilidad se pueden emplear discos de papel filtro-impregnados con bacitracina colocados sobre la superficie del agar.

Técnica.

- Utilizando un asa de inoculación, tomar una porción de una colonia bien aislada del organismo en estudio y es -- trillar un área de 3 cm. de diámetro de una placa de agar - sangre ovina.
- Colocar un disco de bacitracina "A" en el centro del -- área estriada. Presionar suavemente el disco con una pin -- za estéril, de modo que adhiera a la superficie del agar.
- Invertir la placa e incubar a 37°C durante 18 a 24 hrs.

El desarrollo de S. pyogenes es típicamente inhibido por el disco de bacitracina. Usualmente la zona de más -- de 10 mm de inhibición identifica a los estreptococos del grupo "A".

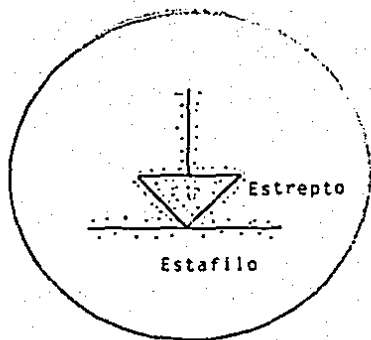
PRUEBA DE CAMP.

Actualmente se ha podido simplificar la identifica -- ción de los estreptococos hemolíticos del grupo "B" gra -- cias a la implantación de la prueba de CAMP.

La actividad hemolítica de la beta lisina estafilocócica sobre los eritrocitos se ve intensificada por un factor extracelular producido por estreptococos del grupo B, llamado factor CAMP. Por lo tanto, cada vez que dos reactantes se superponen en una placa de sangre ovina se advierte una intensificación de la reacción beta-hemolítica.

Para poder realizarse, esta prueba se necesita contar con una cepa de Staphylococcus aureus conocida productora de beta-lisina. Con dicha cepa se traza una estriay en forma perpendicular a ésta otra del estreptococo por identificar.

Ambas líneas no deben tocarse habiendo entre ellas un espacio no menor de medio centímetro. Las placas inoculadas se deben incubar en atmósfera ambiente. Los resultados pueden observarse después de 5 hrs; en caso de que sean negativos, debe volverse a revisar la caja a las 18 hrs. La prueba de CAMP se interpreta como positiva cuando en el punto de confluencia de las dos zonas de hemólisis se observa una lisis más acentuada semejando una punta de flecha, como se indica en la figura:

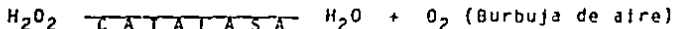


PRUEBA DE CAMP

CATALASA.

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Químicamente es una hemoproteína, de estructura similar a la de la hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro de la molécula están en estado oxidado (Fe^{++}).

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo o aeróbico de los hidratos de carbono. Si se deja acumular, el peróxido de hidrógeno es letal para las células. La catalasa transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, como lo demuestra la siguiente reacción.



El reactivo utilizado para esta prueba es como ya se dijo, el peróxido de hidrógeno en una concentración de 30%. La rápida producción y aparición de burbujas de gas o efervescencia indica una reacción positiva.

La prueba de la catalasa, llevada a cabo en portaobjetos o en tubos, es muy comúnmente utilizada para diferenciar estreptococos (Negativos) de estafilococos (Positivos).

COAGULASA.

La coagulasa es una enzima protéica de composición química desconocida, con actividad semejante a la protrombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo visible en un sistema-analítico adecuado. Se cree que la coagulasa funciona in

vivo produciendo una barrera en el sitio de la infección-estafilocócica. Esto puede servir para localizar los organismos in vivo, en abscesos (carbunclos y forúnculos, - por ejemplo). En el laboratorio, la prueba de la coagulasa se utiliza más comúnmente para diferenciar al Staphylococcus aureus (coagulasa positivo) de otros estafilococos y micrococcos.

La coagulasa se halla presente en dos formas, libre y fija cada una de las cuales posee diferentes propiedades que requieren el uso de técnicas separadas:

- Coagulasa fija (prueba en portaobjetos): La coagulasa fija, conocida como "factor de aglutinación", está unida a la pared celular bacteriana y no está presente en los filtrados de cultivos. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas suspendidas en plasma (fibrinógeno) provocan su aglutinación, indicada por la presencia de agregados visibles en el portaobjeto. La actividad de la coagulasa fija no es inhibida por los anticuerpos formados contra la coagulasa libre.

- Coagulasa libre (prueba en tubos): La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina, que se halla presente en los filtrados de cultivos. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma de manera similar a cuando se añade la trombina.

Si bien se puede utilizar plasma humano o de conejo - obtenido de una muestra de sangre fresca, se recomienda -

el producto comercial liofilizado debido a que el control de calidad es más fácil de mantener.

Interpretación.

Prueba en portaobjeto- Una reacción positiva se detecta usualmente en 15 a 20 segundos por la aparición de un precipitado granular o la formación de grumos blancos. La prueba se considera negativa si no se observa aglutinación en 2 a 3 minutos.

Prueba en tubos- La reacción se considera positiva ante cualquier grado de coagulación visible dentro del tubo. La reacción se observa mejor inclinando el tubo. Si es positiva, el coágulo o gel permanece en el fondo del tubo. Todas las pruebas negativas a las 4 hrs. deben observarse después de 18 a 24 horas de incubación.

FERMENTACION DEL MANITOL

El S. aureus, en contraste con S. epidermidis, fermenta manitol con producción de ácido. El agar manitol salado es un medio altamente selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos en cultivos mixtos. Este medio aprovecha la capacidad de los estafilococos de desarrollar en presencia de cloruro de sodio al 7.5% y la del S. aureus de fermentar manitol.

Las colonias de S. aureus desarrollan bien en el medio, formando un halo amarillo en el agar circundante, que indica la producción de ácido a partir del manitol.

Ocasionalmente se encuentran cepas de estafilococos manitol positivos, que son coagulasa negativos. Por esta

razón, la identidad del S. aureus se establece principalmente en base a la prueba de la coagulasa y la prueba de manitol sólo para confirmación.

3.5 Antibiograma.

Actualmente se acepta la técnica de difusión con discos de Bauer-Kirby como la prueba de susceptibilidad estándar.

Pasos estandarizados:

Medio.- Se ha seleccionado como medio de cultivo estándar el agar de Mueller-Hinton, este promueve el desarrollo de la mayoría de los aislamientos bacterianos clínicamente significativos lo que es más importante, la composición del agar se puede controlar más uniformemente de una partida a la otra, de manera que los microorganismos utilizados para las pruebas de control de calidad dan virtualmente idéntica reactividad de un lote de medio al siguiente.

Asimismo es importante que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4mm. Si es más fino, los antibióticos tienden a difundir más en dirección lateral, aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; un agar de más de 4 mm de espesor produce una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

Inóculo.- Si no se controla la concentración bacteriana en el inóculo, se pueden producir significativas variaciones diarias en el tamaño de las zonas de inhibición de --

los organismos estándar de control. La técnica recomendada para inocular las placas de antibiograma es la siguiente:

Con un hisopo estéril de poliéster tocar las superficies convexas de 4 o 5 colonias de apariencia semejante, que han sido bien aisladas en un medio de aislamiento primario. Sumergir el hisopo en 3 ml. de caldo casoy, enjuagar bien en el líquido para descargar todo el material y luego retirar el hisopo. Incubar el tubo de cultivo a 37°C durante aproximadamente 2 a 3 hrs. o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar No. 0.5 de MacFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 10^8 organismos/ml. Una vez logrado esto, sumergir un segundo hisopo estéril y seco, en la suspensión bacteriana, y antes de retirarlo eliminar el exceso del líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo.

Inocular con este hisopo la superficie de una placa de agar de Mueller-Hinton. Previamente, dejar que la placa tome la temperatura ambiente; es aconsejable mantener la tapa entreabierta para permitir la evaporación de cualquier exceso de humedad de la superficie del agar. A fin de cubrir uniformemente toda la superficie de la placa, se sugiere estriarla con el hisopo en por lo menos tres direcciones, dando vuelta a la placa en ángulos de aproximadamente 60° luego de cada estria.

Una vez seco el inóculo, la placa de Mueller-Hinton está lista para la colocación de los discos con antibiótico sobre la superficie del agar, los discos tienen que estar a temperatura ambiente antes de ser colocados en la superficie del agar.

Los discos se pueden colocar en la superficie del agar manualmente, utilizando una pinza estéril, los discos deben colocarse por lo menos 22 mm uno de otro y a 14 mm del borde de la placa para evitar que las zonas de inhibición se superpongan o se extienda hasta el margen de la placa. Los discos se deben presionar suavemente sobre la superficie con la punta de la pinza, para asegurar el contacto firme con el agar, cuidando de no moverlos una vez colocados en su lugar.

El método de Bauer-Kirby usa los llamados discos de "alto poder". El término "alto poder" designa una concentración relativamente elevada de antibiótico, comparada con la baja concentración, a menudo 1 a 2 microgramos o menos que contenían los discos elaborados antes del desarrollo del método estándar. La concentración de antibiótico en el disco debe ser lo suficientemente grande como para producir una difusión homogénea y fácilmente reproducible.

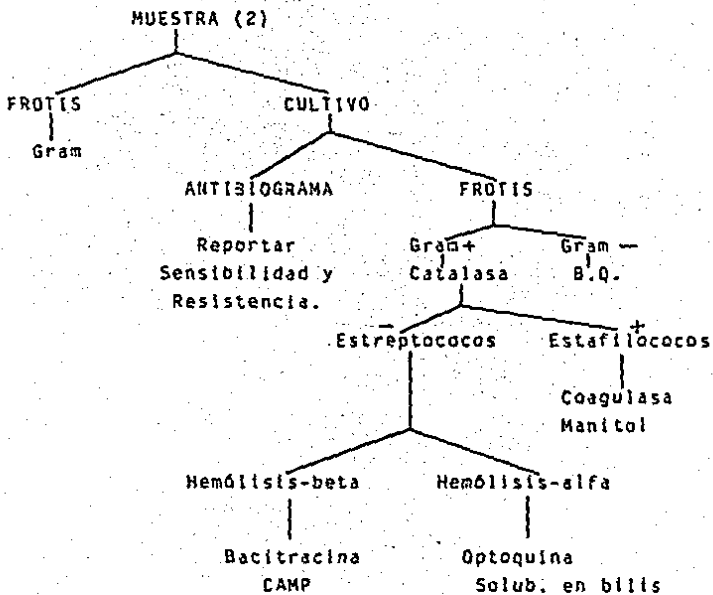
Incuabación.- Una vez preparadas convenientemente las placas para la prueba de susceptibilidad, se les debe colocar en una incubadora a 35°C por 18 hrs. en atmósfera normal. Las placas se deben colocar invertidas en la incubadora, de modo que la humedad o condensación que se acumula en la tapa no caiga sobre la superficie del agar.

Medición de diámetros.- Los diámetros de las zonas de inhibición se deben medir cuidadosamente por la parte posterior de la placa, utilizando una fuente de luz brillante transmitida. Se pueden emplear calibres móviles y cuadrados, reglas marcadas en mm o plantillas especialmente preparadas.

Si bien la prueba de Bauer-Kirby ha sido aceptada -

como la técnica estándar para la realización de antibiogramas, proporcionando información útil en la mayoría de los casos, presenta algunas limitaciones obvias, pese a estas limitaciones, la técnica de Bauer-Kirby representa un avance ya que provee resultados estandarizados, comparables entre los distintos laboratorios.

3.6 Esquema del estudio realizado.



CAPITULO IV

RESULTADOS

RESULTADOS.

El presente estudio se realizó en 100 muestras de - personas que laboran o tienen acceso a las áreas estériles de Laboratorios Alpha S.A. que acudieron al laboratorio clínico anexo a dichos laboratorios, para tomarles la muestra de exudado faríngeo.

En base a las observaciones de los cultivos en agar sangres. Se aislaron 54 cepas productoras de beta-hemólisis lo que indica que un 54% de la población es portadora de estreptococos. Luego de realizar las pruebas bioquímicas necesarias para su identificación, se estableció que de las 54 cepas aisladas, 40 correspondieron a estreptococos beta-hemolíticos no A no B, 8 cepas correspondieron a Streptococcus pyogenes del grupo A beta-hemolíticos y 6 cepas de estreptococos del grupo B. Se aislaron 22 cepas de estafilococos beta-hemolíticos en agar sangre, de los cuales 4 cepas identificadas como Staphylococcus aureus y las 18 cepas restantes son estafilococos sp. estos constituyen un grupo que en los últimos tiempos han adquirido mucha importancia ya que pueden ser patógenos en un momento dado, aun dando la prueba de la coagulasa negativa.

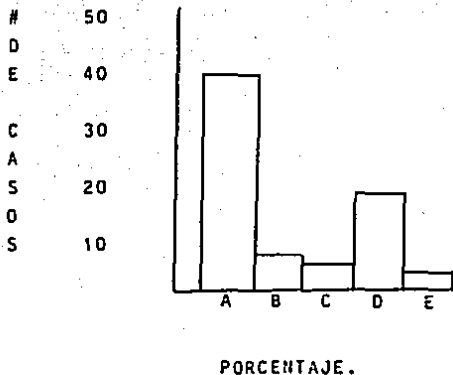
De los 100 casos se reportaron 24 negativos.

Para la selección de la población no se tomó en cuenta algún parámetro en especial solamente que fueran parte del personal de las áreas estériles, considerándose algunos datos clínicos para fines estadísticos tales como: sexo, estado civil, edad, puesto, turno y además las condiciones físicas de la garganta principalmente el grado de enrojecimiento, se observó que éste dato coincidió con los casos reportados con S. aureus presentándose en ellos

un nivel elevado de enrojecimiento.

Lo antes mencionado se puede observar en la siguiente gráfica.

Figura No. 1 Relación del número de casos con el porcentaje obtenido de cada uno de los microorganismos identificados en el Exudado Faríngeo.



A= Streptococcus beta-hemolítico no A no B	---	40%
B= Streptococcus beta-hemolítico del grupo A	-	8%
C= Streptococcus beta-hemolítico del grupo B	-	6%
D= Staphylococcus sp.	- - - - -	18%
E= Staphylococcus aureus	- - - - -	4%
	<hr/>	76%
	Negativos --	24%
	<hr/>	100%

Los antibiogramas realizados presentaron resultados

similares en todos los casos.

Todas las cepas de estreptococos fueron sensibles a la penicilina como se esperaba, pero se realizó el anti - biograma con el fin de tener otras opciones de tratamiento, en caso de que el paciente desarrollara reacción alérgica a la penicilina.

Fueron incluidos los siguientes antibióticos:

Kanamicina, eritromicina, estreptomycin y trimetoprim-Sulfametoxazol.

El antibiograma para estafilococos presentó en las cuatro cepas identificadas como S. aureus una respuesta similar.

Sensibilidad a: Ampicilina, penicilina, kanamicina cefatoxina y trimetoprim-sulfametoxazol.

Resistente a: Lincomicina.

Lo antes mencionado se observa en los siguientes cuadros:

CUADRO No. 1 Relación de la respuesta del género *Streptococcus* a los antimicrobianos.

Estreptococos beta-hemolíticos	Antibióticos				
	ER	Es	MM	P	K
S. pyogenes	S	S	R	S	S
S. del grupo B	S	S	R	S	S
S. no A no B	S	S	S	S	S

CUADRO No. 2 Relación de la respuesta del género *Staphylococcus* a los antimicrobianos.

<u>Staphylococcus aureus</u>	P	A	K	Cx	MM	Li
	S	S	S	S	S	R

-S= Sensible.
-R= Resistente.

P = Penicilina
A = Ampicilina
K = Kanamicina
Cx = Cefatoxina
MM = Trimetoprim -Sulfame-
toxazol
Er = Eritromicina
Es = Estreptomina
Li = Lincomicina.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Del presente estudio se concluye que el hombre es -- una fuente importante de contaminación en las áreas estériles, debido al porcentaje tan elevado (76%) de portadores asintomáticos lo que representa un peligro ya que diseminan los patógenos potenciales y de no ser por el exudado faríngeo no son detectados clínicamente.

El porcentaje de microorganismos patógenos relativamente bajo (12%) se explica en base a que el estudio -- fué de control y por lo tanto el personal está sano clínicamente.

Los objetivos propuestos y los resultados obtenidos -- permiten a la empresa establecer parámetros que mantengan el control sanitario de las áreas estériles. Dichos parámetros se consideran de suma importancia ya que son reglas establecidas por autoridades competentes.

Los resultados que fueron obtenidos del estudio realizado dan el conocimiento al personal sobre su estado de salud normal o patológico, que junto con el diagnóstico -- de médico aislan la posibilidad de una propagación endémica dentro del área estéril jugando un papel importante en la calidad de los productos y en el estado físico y mental del personal. En base a lo anterior la empresa previene situaciones que pueden afectar su economía, por tal motivo decidió implantar en forma interna un laboratorio-clínico.

Finalmente y para concluir se manifiesta la necesidad en la Industria Farmacéutica de contar con un laboratorio clínico propio, para cubrir las necesidades del per

sonal, además, de las requeridas por la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- Carpenter, P.L.
MICROBIOLOGIA.
Edición 4a. México, D.F.
Editorial Interamericana. 1984.

- Davis, B.D.; Dulbecco, H.N.; Eisen, H.S.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA
Edición 2a. España
Editorial Salvat. 1972.

- DICCIONARIO TERMINOLOGICO DE CIENCIAS MEDICAS.
Edición 11a. México, D.F.
Editorial Salvat. 1983.

- Finegold S.M.; Baron E.J.
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO
Edición 7a. Buenos Aires. Argentina
Editorial Médica Panamericana. 1989.

- Freeman, B.A.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS.
Edición 21a. México, D.F.
Editorial Panamericana. 1983.

- Jawetz, E.; Allen, S.
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO
Edición 8a. México, D.F.
Editorial El Manual Moderno. 1979

- Koneman; Allen; Dowd y Sommers.
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO.
Edición 1a. Buenos Aires. Argentina
Editorial Panamericana. 1983.

- Linch M.J.; Stanley S.R.
METODOS DE LABORATORIO
Edición 2a. México, D.F.
Editorial Interamericana. 1982.

- Mendiola, J.J.
RESUMEN CLINICO DE ECOLOGIA
Reimpresión 1a. México, D.F.
Editorial Universidad Autónoma de Guadalajara. 1982.

- Coll P., Condom M.J., Mirelis B.
LA SUSCEPTIBILIDAD AL TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL EN LA
DIFERENCIACION DE LOS ESTREPTOCOCOS.
Laboratorio. Vol.: 79 No. 473 Año: 1985: 287-292.

- García Bustos J.F., Tomsz A.
ALTERED PEPTIDOGLYCAN STRUCTURE IN A PNEUMOCOCCAL TRANS-
FORMANT RESISTANT TO PENICILLIN.
Journal of Bacteriology. Vol: 170 No: 5 Año: 1988: 2143
2147.

- Jablonski P.E, Mychallonka M.
OXACILLIN-INDUCED INHIBITION OF PROTEIN AND RNA-SYNTHESIS
IN A TOLERANT Staphylococcus aureus ISOLATE.
Journal of Bacteriology. Vol: 170 No. 4: Año: 1988: --
1831-1836.

- Kaplan E.L., Johnson D.R., Cleary D.P.
GROUP A STREPTOCOCCAL SEROTYPES ISOLATED FROM PATIENTS
AND SIBLING CONTACT DURING THE RESURGENCE OF RHEUMATIC

ESTA TESIS NO DEBE^{49.}
SALIR DE LA BIBLIOTECA

FEVER IN THE UNITED STATES MID 1980s.

Journal of Infectious Diseases. Vol: 159 No: 1 Año:
1989: 101-103.

- Lam C., Basalka E.
EFFECT OF SUBINHIBITORY CONCENTRATIONS OF JOSAMYCIN --
ON THE EXPRESSION OF "M" PROTEIN BY GROUP A STREPTOCOCCI.
European Journal Clinic Microbiology. Vol: 4 No: 3 -
Año: 1989: 279-281

- Vijaykumar P.
ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE CELL-ASSOCIATED
REGION OF GROUP A STREPTOCOCCAL M6 PROTEIN.
Journal of Bacteriology. Vol: 170 No: 6 Año: 1988.
2618-2634.