



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

30 120/83
Ej.

ESTUDIO SOBRE ESPECIES PREDOMINANTES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA
NEGATIVA, SU SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS Y RELACION CLINICA

Tesis Profesional
que para Obtener el Tltulo de Biologo
Presenta

GERTRUDIS LOURDES JIMENEZ GARCIA

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEXICO 1983



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 esta 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.

A MIS PADRES ...

A MIS HERMANOS ...

POR EL AMOR QUE SIEMPRE HE TENIDO
DE ELLOS

A MIS TIOS:

ARCADIO Y RUFINA, POR EL APOYO INCONDICIONAL QUE
ME HAN BRINDADO

A MIS AMIGOS, ELLOS SABEN QUIENES SON

AGRADESCO AL DR. ONOFRE MUÑOZ HERNANDEZ
Y A LA Q.ª.B. MARTHA GARCIA POR EL ESTI
MULO Y ENSEÑANZAS QUE RECIBI DE ELLOS,
NO MENOSPRECIANDO LOS ATINADOS CONSEJOS
DE LOS Q.B.P. JAVIER TORRES Y RODOLFO
GOMEZ ASI COMO DE LOS DOCTORES JOAQUIN
SANCHEZ Y JUAN ANTONIO TREJO.

A TODOS ELLOS ¡MUCHAS GRACIAS!

ESTA TESIS SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE
BACTERIOLOGIA SITUADO EN EL 8° PISO DEL -
HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL CENTRO MEDICO NA
CIONAL (I.M.S.S.) BAJO LA DIRECCION DEL -
DR. ONOFRE MUNOZ HERNANDEZ.

I N D I C E

Páginas

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	19
DISCUSION	33
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFIA	41

R E S U M E N

Mediante el esquema de Kloos y Schleifer (1975) se identificaron 181 cepas de estafilococos coagulasa-negativa de especímenes clínicos -- del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional.

Se aislaron seis de las nueve especies conocidas, las más frecuentes fueron Staphylococcus xylosum y Staphylococcus epidermidis, con un 38 por ciento y un 36.1 por ciento respectivamente.

El 95.7 por ciento de las cepas aisladas se identificó como especies de estafilococos coagulasa-negativa y hubo diferencia estadística entre los resultados positivos de las pruebas bioquímicas ($P \leq 0.001$).

Las especies de estafilococos coagulasa-negativa fueron resistentes a Penicilina G en 29 a 76 por ciento pero fueron muy susceptibles a Vancomicina pues presentaron una resistencia de 1 a 6 %.

Solo se pudo establecer una probable relación clínica con infección en el 12% de las cepas aisladas, en el 69 por ciento correspondieron a contaminación y en el 19 por ciento no fue posible llegar a -- una conclusión.

I N T R O D U C C I O N

El género Staphylococcus pertenece a la familia Micrococaceae la cual incluye además a los géneros Micrococcus y Planococcus. Son bacterias cocoides gram positivas de 0.5 a 1.5 micras de diámetro, se agrupan en pares o en racimos irregulares de acuerdo con su plano de división, ocasionalmente se presentan en tetradas, las colonias son circulares, convexas y con borde entero o ligeramente irregular, su color es blanco y en ocasiones naranja.

Pueden ser integrantes de la flora normal de la piel y de las mucosas en animales de sangre caliente.

La pared celular contiene fósforo orgánico, glicerol, ácido murámico, los aminoácidos glicina, lisina, ácido aspártico, serina, ácido glutámico, alanina y pequeñas cantidades de treonina, prolina, valina y leucina, estos compuestos pueden encontrarse entre los dos principales componentes de la pared celular que son la peptidoglicana y los ácidos teicóicos. La peptidoglicana esta constituida por unidades peptídicas formando pentapéptidos que contienen glicina con L-serina y algunas veces L-alanina. Su metabolismo es aeróbico y fermentativo.

El sistema de transporte de electrones lo forman las menaquinonas y los citocromos a, b₁ y 0.

Como fuente de nitrógeno orgánico utilizan para su crecimiento los aminoácidos, además de un grupo de vitaminas B en el que se incluye la biotina. Para el crecimiento anaeróbico la mayoría de las cepas requieren de uracilo y de una fuente de carbono fermentable. La acetoina se produce como un producto final del metabolismo de la glucosa con un pH final de 4.2 - 5.8 en caldo de glucosa, el amonio se produce a partir de la arginina por la acción de la arginina - deshidrolasa. Muchas cepas producen una hemolisina termoestable que causa hemólisis completa en eritrocitos de cobayo, conejo, caballo, mono y humano (1, 2).

Antecedentes históricos.

En el transcurso de los años los estafilococos coagulasa negativa han recibido las siguientes clasificaciones binomiales: (1)

<u>Albococcus epidermidis</u>	(Winslow-Winslow 1880)
<u>Staphylococcus epidermidis albus</u>	(Welch 1891)
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	(Winslow-Evans 1916)
<u>Micrococcus epidermidis</u>	(Winslow-Winslow 1924)
<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	(Fair 1940)
<u>Micrococcus hycus</u>	(Sompolinsky 1953)
<u>Micrococcus violagabriellae</u>	(Castellani 1955)
<u>Staphylococcus epidermidis subespecie violagabriella</u>	(Marples 1969) (1) .

Criterios de identificación.

Se han propuesto varios criterios para la identificación de estafilococos coagulasa-negativa. En 1965 Baird-Parker y Hugh-Ellis utilizaron pruebas como la producción de pigmento, coagulasa, oxidasa, fosfatasa, formación de ácido a partir de los carbohidratos como glucosa, lactosa, maltosa, manitol, sacarosa, xilosa, la reducción de nitratos, la hidrólisis de arginina, la licuefacción de la gelatina y el

crecimiento en anerobiosis (3, 4, 5).

Entre otros criterios de identificación se encuentra el de Williams-Corse y Veroeff van Boven-Winkler que han usado un esquema de identificación serológica y tipificación por fagos (4).

Aunque tal tipificación por fagos no ha sido suficientemente específica para estafilococos coagulasa-negativa y así, varios autores han desarrollado grupos de fagos lisogénicos que podrían eventualmente formar una tipificación internacional para reconocer este tipo de bacterias (6).

En base a la producción de la enzima coagulasa se ha diferenciado a S. aureus de los estafilococos coagulasa-negativa pero varios autores han opinado que la DNAasa es la mejor prueba diferencial (7,8).

En 1975 Kloos y Schleifer describen nueve especies de estafilococos coagulasa-negativa (tabla 1) donde considera los siguientes parámetros:

la morfología colonial en medio de agar sangre, la morfología microscópica, la producción de coagulasa, el crecimiento anaeróbico en glicolato, la hemólisis en sangre de carnero y sangre humana, la

TABLA 1

ESQUEMA SIMPLIFICADO DE IDENTIFICACION PARA ESTAFILOCOCOS COAGULASA - NEGATIVA EN HUMANOS

	Crec. anaerób. en tii glicol.	Lisostafin resistente a 50 mg ^m -ml.	Coagulasa	Hemólisis en sangre bovina	Reducción de nitratos	B-D(-) Fructosa	D(-) Galactosa	D(+)-Manosa	D(-) Xilosa	D(+)-Ribosa	Maltosa	alfa lactosa	Sacarosa	D(+)-Trehalosa	D(+)-Turamasa	D-Nonitol	Xylitol
<u>Staphylococcus</u> sp.	(±, C)	-	+	±	+	+	+	+	-	+	(-)	+	+	+	-	(±, -)	-
<u>S. simulans</u>	+	-	-	±, -	+	+	-	(+)	-	v	-, +	+	+	(+)	-	(+)	-
<u>S. xylosum</u>	v	-	-	(-)	(+)	+	±, ±	+	±, ±	v	(+)	v	+	+	(±, ±)	+	(-)
<u>S. cohnii</u>	v	-	-	(-, ±)	-	+	-	v	-	-	(±, +)	(-)	(-)	+	-	(+, ±)	(+, -)
<u>S. saprophyticus</u>	(+, ±)	(+)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	(+)	+	±	+	+	(+, ±)
<u>S. haemolyticus</u>	(±, C)	+	-	(+)	(+)	±, -	v	-	-	(-)	+	-, +	+	+	v	±, -	-
<u>S. warneri</u>	(+)	+	-	-, ±	(-)	+	(-)	-	-	±, -	(-)	+	+	(-)	-	±, -	-
<u>S. hominis</u>	C	+	-	(-)	(+, ±)	+	v	-	-	-	+	v	+	+	(±)	-	-
<u>S. epidermidis</u>	+	+	-	-, ±	(+, ±)	+	(+)	(±)	-	-	+	(+)	+	-	v	-	-
<u>S. capitis</u>	v	+	-	(-)	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	+	-	-	+	-

+ = positivo, ± = débil, - = negativo, v = variable, Símbolos para el crecimiento anaeróbico en tii glicolato, = densidad uniforme, + = gradiente de densidad a la luz en el fondo del tubo, + C = colonias grandes (individuales), c = colonias pequeñas ó ausencia de crecimiento visible, v = variable (+, ±, ± C).

reducción de nitratos, la susceptibilidad a Lisostafín, la utilización aeróbica de los carbohidratos: fructosa, galactosa, manosa, xilosa, maltosa, sacarosa, lactosa, trehalosa, turanosa, manitol, xilitol y ribosa (2,3,5,7,9). Las especies descritas por ambos autores fueron:

Staphylococcus simulans

Staphylococcus xylosus

Staphylococcus cohnii

Staphylococcus saprophyticus

Staphylococcus haemolyticus

Staphylococcus warneri

Staphylococcus hominis

Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus capitis (2).

Relación clínica.

Desde 1955 algunos autores han empezado a considerar involucrados a estafilococos coagulasa-negativa en procesos infecciosos primarios y

secundarios (6,7,10).

Así S. epidermidis se ha relacionado en un 57 a 77 por ciento de los pacientes postquirúrgicos a los que se les ha instalado un catéter intravascular (catéter arterial o catéter para medir presión venosa) -- (10,11).

Las prótesis valvulares cardíacas se han encontrado contaminadas hasta en un 35 por ciento (12,13,14,15), incrementando la incidencia de endocarditis bacteriana con un índice de mortalidad de 56 a 83 por ciento (13,15). Se han aislado estafilococos coagulasa-negativa en un 50 por ciento de válvulas de derivación de líquido cefaloraquídeo --- (16,17).

S. saprophyticus ha causado infección en vías urinarias de mujeres con bacteriuria sintomática (18,19) en un 7 a 28 por ciento, siendo más frecuente en mujeres jóvenes con un 42 a 73 por ciento (20,21, -- 22). El porcentaje más elevado de este germen en niños enfermos ha sido de 41 por ciento en edades comprendidas de 11 a 16 años (23). En niños con otitis media se ha aislado en un 7.6 por ciento y en un 8 por ciento en infecciones de reemplazos totales de cadera (8,24).

También se le ha dado importancia como agente etiológico en infecciones de heridas quirúrgicas (25,26), en abscesos intraabdominales y en fascitis necrosante con septicemia (27,28).

Al mismo tiempo que se ha descrito la importancia clínica, diferentes autores han reportado una alta resistencia a los antibióticos (13, -- 29,30).

Consideramos importante el aislamiento y la identificación de las especies de estafilococos coagulasa-negativa de sangre, líquido cefalorraquídeo y exudados obtenidos de pacientes del Hospital de Padiatría del Centro Médico Nacional mediante el esquema simplificado de Kloos y Schleifer, ya que conociendo la incidencia y su inferencia clínica en pacientes hospitalizados así como el patrón de sensibilidad a los antibióticos de la cepas aisladas se podrá sugerir la terapéutica adecuada para aquellos pacientes afectados por estas bacterias.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron un total de 189 muestras las cuales fueron colectadas en el laboratorio Clínico del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, 161 correspondieron a hemocultivos, 15 a líquido cefalorraquídeo, 13 a exudados diversos (ocular, secreciones de heridas quirúrgicas y muestras obtenidas de puntas de catéter).

El estudio de dichas muestras comprendió los siguientes parámetros: Bacteriológico, Sensibilidad a antimicrobianos, y la Relación clínica.

Bacteriológico.**1.- Morfología de las colonias.**

Las muestras se sembraron en placas con gelosa sangre (Bioxon, Lote No. 241B9B2) conteniendo 5 por ciento de sangre de carnero, se aisló por el método de estría cruzada y se incubaron a 35° C por 18-24 horas tiempo después del cual se buscaron las siguientes características coloniales: color blanco, superficie lisa, elevación convexa, -- bordes enteros, transmisión a la luz opaca. Las colonias que presentaron las características antes mencionadas y que resultaban sospecho-

sas de pertenecer al género Staphylococcus se les efectuó la tinción de Gram para buscar cocos Gram positivos agrupados en racimos.

2. Coagulasa.

De las colonias características del género Staphylococcus, se sembró una asada en tubos conteniendo 5 ml de caldo B.H.I. (Caldo Insusión - de cerebro corazón, Bioxon, Lote No. 22HB0B2) y se incubaron a 35° C por 18-24 horas. De estos cultivos, se tomó 0.1 ml (densidad 10^9 U.F.C./ml) y se añadió a tubos estériles conteniendo 1 ml de plasma fresco y se incubó a 35° C durante 18-24 horas, al término de este tiempo se observó la formación o la ausencia de coágulo (2,31).

Con las cepas de estafilococos coagulasa-negativa se siguió la marcha de identificación propuesta por Kloos y Schleifer (2,3,6).

3. Crecimiento anaeróbico en tioglicolato.

En tubos con 8 ml de tioglicolato al 0.3 por ciento de agar (Bioxon, Lote No. 091B0B2) se inoculó 0.1 ml de un cultivo de 18-24 horas, de estafilococos coagulasa-negativa, (densidad 10^6 - 10^7 U.F.C./ml) y se -

incubaron a 35° C. Se observó el crecimiento cada 24 horas y en el caso de resultar negativo, se continuó la incubación por más días, considerándose como negativo hasta los 5 días. Se consideró como positivo cuando la bacteria tuvo un crecimiento denso y uniforme en el fondo del tubo o a lo largo de la picadura, así también, se consideró la formación de colonias grandes (^{+}C), la formación de colonias pequeñas (^{+}c) o ausencia de crecimiento (2).

4. Hemólisis.

En placas con gelosa sangre (Bioxon, Lote No. 22HBOB2) al 5 por ciento con sangre humana o de carnero, se depositó un inóculo de un cultivo de 18-24 horas (densidad 10^9 U.F.C./ml) y se incubó a 35° C. Se determinó el área de hemólisis a las 24, 48 y 72 horas, y se interpretó con el siguiente criterio: como positiva la beta hemólisis, zona ---- transparente \geq a 2.5 mm con sangre humana y \geq 1.5 mm con sangre de carnero. Como moderada la alfa hemólisis débil \leq de 2.5 mm en sangre humana y \leq de 1.5 mm en sangre de carnero y como negativa la ausencia de hemólisis tanto en sangre humana como de carnero (2).

5. Reducción de Nitratos.

Se inocularon 2.5 ml de caldo de nitratos (Difco, Lote No. 0268-01) - con 0.1 ml de un cultivo de 18-24 horas (densidad 10^9 U.F.C./ml) y se incubaron a 35° C por 48 horas. La reducción de nitratos se hizo evidente agregando 3 gotas de ácido sulfanílico al 0.8 por ciento (Baker) en ácido acético glacial (Merk) y 3 gotas de alfa-niftilamina al 0.5 por ciento (Sigma) en ácido acético 5 N, posterior a esto se hizo la lectura a los dos minutos. La formación de color rojo fuerte a rosa púrpura se consideró como una reducción positiva, como débil la presencia de un color rosa y como negativa la ausencia de color (para confirmar la negatividad de la prueba se añadió zinc metálico con lo que el color del cultivo de caldo de nitratos cambió a color rojo fuerte o a rosa púrpura).

6. Susceptibilidad a lisostafin.

Se prepararon placas con agar B.H.I. (Bioxon, Lote No. 08DB1B2) a las que se añadió 50 microgramos/ml de lisostafin así también se prepararon placas control sin lisostafin, se inocularon con un cultivo 18-24

horas y se incubaron a 35° C por 24 horas. Se probaron 15 cepas por placa. Las cepas que crecieron fueron resistentes a 50 microgramos/ml de lisostafin lo que involucra que la porción peptídica de la peptidoglicana de la pared celular posee la secuencia de aminoácidos L-Lys--Gly₃₃₋₆₁-L-ser₀₆₋₁₅ mientras que las sensibles poseen una secuencia de aminoácidos L-Lys-Gly₄₇₋₆₀.

7. Producción de ácido mediante el metabolismo aeróbico de carbohidratos.

A caldo rojo de fenol (Difco, Lote No. 0092-02) se añadió 1% de cada uno de los carbohidratos a probar: D-Fructosa, D(-) Galactosa, xilosa, Ribosa, Turanosa, Xilitol (Sigma), Maltosa, Sacarosa, Trehalosa, (Difco), Manosa, Manitol (Pfanstihel). En placas de poliestireno --- (Limbro) se depositaron 300 microlitros de cada uno de los carbohidratos al 1%, los cuclles se inocularon con 5 microlitros de un cultivo de 18-24 horas (densidad 10^9 - 10^8 U.F.C./ml) de estafilococos --

coagulasa-negativa se incubaron a 35° C durante 24, 48 y 72 horas. En cada placa se probaron 8 cepas diferentes de estafilococos coagulasa-negativa por cada serie de 12 carbohidratos. La interpretación se consideró como positiva cuando hubo producción de ácido con lo que el indicador de rojo fenol viró de rojo a amarillo, moderada cuando el indicador de rojo fenol viró a color canela y negativa cuando no hubo cambio de color en el medio (2, 9).

8. Pruebas de sensibilidad a antimicrobianos.

Se utilizó el método de dilución en placa con el replicador de Steers (34). Los antibióticos probados fueron: Gentamicina, Eritromicina, -- Rifampicina, Dicloxacilina, Penicilina, Vancomicina, Cefalotina y --- Cloranfenicol.

La preparación de las placas fue como sigue: se hicieron diluciones dobles seriadas a partir de una solución patrón de 1000 microgramos/ml de cada uno de los antibióticos previamente esterilizados (ver tabla 2) dentro de un rango de 32-0.5 microgramos/ml, añadiendo cada -- una de las diluciones a agar Mueller-Hinton con pH 7.2-7.4 (Bioxon, -

T A B L A 2

PREPARACION DE ANTIBIÓTICOS USADOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Antibiótico	Potencia %	Peso mg	Procedencia	Solvente
Antibiótico	68.43	0.0292	Sheramex	1° 5cc de metanol 2° 5cc de agua 3° 5cc de metanol 4° 5cc de agua
Eritromicina	69.4	0.0283	Lilly	"
Rifampicina	94.6	0.0212	Lepetit	"
Cloranfenicol	100.0	0.0200	Parck-Davis	"
Dicloxacilina	91.0	0.0219	Sanfer	20 cc de Agua
Penicilina	100.0	0.0200	Lakeside	"
Vancomicina	100.0	0.0200	Lilly	"
Cefalotina	100.00	0.0200	Lilly	"

a) Orden que se siguió para disolver el antibiótico.

b) Peso en miligramos para obtener potencia del 100%

Lote No. 15DBOB2); se inoculó cada una de las cepas de estafilococos coagulasa-negativa en tubos conteniendo 10 ml de caldo B.H.I. se incubaron a 35° C durante 18-24 horas, se hicieron diluciones para obtener una concentración bacteriana de 10^4 - 10^5 U.F.C./ml. Las placas preparadas con cada uno de los antibióticos y las diluciones antes mencionadas se inocularon con una concentración bacteriana de 10^4 - 10^5 U.F.C./ml usando para ello el replicador de Steers, se incubó a 37° C durante 18-24 horas, después de esto se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) que es la concentración mínima del antibiótico a la cual se inhibe el crecimiento bacteriano. Se probaron 32 cepas diferentes de estafilococos coagulasa-negativa por placa (34).

Como controles negativos se utilizó medio sin inocular y placas sin antibiótico inoculadas, ambas se manejaron en las mismas condiciones de cultivo que las pruebas para estafilococos coagulasa-negativa.

9. Relación Clínica.

Una vez identificadas las cepas de estafilococos coagulasa-negativa - se obtuvo información clínica de los expedientes de pacientes pediátricos a los que se les tomó la muestra para establecer una probable relación clínica tomando en cuenta los siguientes criterios:

- 1) Se consideró al estafilococo coagulasa-negativa aislado como probable agente causal de infección, cuando se identificó al menos en dos muestras consecutivas del mismo material biológico, coincidiendo esto con la manifestación de infección local o sistémica y mejoría del padecimiento con el manejo antimicrobiano específico para este germen.
- 2) Se consideró como contaminación cuando el aislamiento ocurrió en una sola ocasión o cuando no coincidió con la presencia de infección local o sistémica, o bien si hubo curación del padecimiento sin utilizar antimicrobianos específicos contra esta bacteria. Se analizaron los grupos de edad afectados por este germen así como la presencia de material extraño y las especies que predominaron en hemocultivos, Líquido Cefalorraquídeo y exudados diversos.

RESULTADOS

1. Bacteriológico.

Morfología:

En gelosa sangre los estafilococos presentaron la siguiente morfología colonial:

Forma circular, tamaño de 1 a 3 mm, color blanco o amarillo, ocasionalmente naranja, superficie lisa, bordes enteros, reflexión a la luz brillante, transmisión a la luz opaca, elevación convexa.

Morfología microscópica.-Con la técnica de tinción de Gram se identificaron células esféricas las cuales tomaron el color del cristal violeta.

Pruebas bioquímicas.

En base al esquema de identificación de Kloos y Schleifer (tabla 1), se encontraron los siguientes porcentajes de las especies de estafilococos coagulasa-negativa:

Para la especie S. xylosus 38.1%, S. epidermidis tuvo un porcentaje de 36.5%, S. haemolyticus 9.0%, S. simulans 5.8%, S. hominis y S. saprophyticus obtuvieron los más bajos porcentajes que fueron 3.7% y

2.6% respectivamente (tabla 3).

T A B L A 3

ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVA IDENTIFICADAS

Espece	No. de Cepas	(%)
<u>Staphylococcus xylosum</u>	72	38.1
<u>Staphylococcus haemolyticus</u>	17	9.0
<u>Staphylococcus simulans</u>	11	5.8
<u>Staphylococcus hominis</u>	7	3.7
<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	5	2.6
<u>Estafilococos coagulasa-negativa no identificados</u>	8	4.2
Total de cepas trabajadas	189	99.9

En las diferentes pruebas bioquímicas para las especies de estafilococos coagulasa-negativa se obtuvo lo siguiente:

Para la prueba de la coagulasa todas las especies dieron el 100 por ciento de negatividad, para el carbohidrato fructuosa hubo altos porcentajes positivos para casi todas las especies solo que para S. haemolyticus el más alto porcentaje positivo fue de 70.5 por ciento y como resultado negativo 29.4 por ciento, para la prueba con xilosa se obtuvieron altos porcentajes negativos para las especies excepto que para la S. xilosus obtuvo porcentaje positivo de 73.6 por ciento, para la trehalosa los porcentajes positivos resultaron elevados no así para S. epidermidis que tuvo 28.9 por ciento de positividad, en maltosa los resultados tuvieron altos porcentajes de positividad, para xilitol y ribosa las cuales obtuvieron elevados porcentajes de negatividad para las 6 especies identificadas ocurriendo lo mismo en manitol, solo que S. simulans y S. saprophyticus tuvieron 63.6 y 40 por ciento de positividad respectivamente, en galactosa en la cual hubo altos porcentajes positivos menos para S. simulans y S. saprophyticus que tuvieron 27.2 y 100 por ciento de negatividad respectivamente, así --

también en manosa se obtuvo para S. haemolyticus 70.5 por ciento de negatividad y para S. hominis y S. saprophyticus 85.7 por ciento y 100 por ciento respectivamente, en la prueba de turanosa el más alto porcentaje positivo fue para S. xylosus con un 95.9 por ciento, S. simulans en la misma prueba presentó el 18 por ciento de positividad y 45.4 por ciento de + (variable), en la prueba de sensibilidad a lizostafin hubo un 63.6 por ciento de resultados negativos para S. simulans y S. xylosus tuvo un 22 por ciento. En la reducción de nitratos los resultados positivos fueron altos en porcentajes coincidiendo esto para el crecimiento anaeróbico en tioglicolato (tabla 4).

TABLA 4

Pruebas Bioquímicas de los especies de estafilococos coagulasa-negativa

Especie	No de cepes (%)	COAGULASA	FRUCTOSA	SACAROSA	XYLOSA	TREHALOSA	MALTOSA	XYLITOL	LIGOSTAFIN	REDUCCION DE NITRATOS	REBOSA	TIOLICOLATO	MANITOL	GALACTOSA	MANOSA	HEMOLISIS	TURANOSA	LACTOSA
<u>S. xylosus</u>	72/189 38.1	-100 + 0 - ± 0	+ 923 ± 2.7 - 0.0	+ 83.5 ± 15.2 - 1.3	+ 73.6 ± 0.0 - 26.3	+ 95.9 ± 0.0 - 4.3	+ 96.0 ± 2.7 - 1.3	+ 876 ± 11.1 - 1.3	+ 69.1 ± 8.0 - 22.0	+ 83.4 ± 9.7 - 6.9	+ 79.25 ± 18.05 - 2.70	+ 100 ± 0 v - 0	+ 91.7 ± 0.0 v - 8.3	+ 93.1 ± 69.1 - 0.0	+ 69.0 ± 1.3 - 9.7	+ 19.44 ± 8.30 - 72.26	+ 95.9 ± 0.0 - 4.1	+ 848 ± 11.1 v - 4.1
<u>S. epidermidis</u>	69/189 36.5	-100 + 0 - ± 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 89.8 ± 10.1 - 0.0	+ 0.0 ± 43 - 95.6	+ 28.98 ± 34.78 - 36.23	+ 98.5 ± 0.0 - 1.4	+ 0.0 ± 30.4 - 69.5	+ 97.0 ± 1.4 - 1.4	+ 89.8 ± 10.1 - 0.0	+ 8.0 ± 2.8 - 88.4	+ 92.7 ± 0.0 - 7.2	+ 11.5 ± 24.9 - 63.4	+ 91.3 ± 8 (+) - 0	+ 91.3 ± 8.7 (+) - 0.0	+ 79.9 ± 2 - - 173	+ 50.7 ± 1.4 v - 33.0	+ 92.7 ± 7.2 (+) - 0.0
<u>S. haemolyticus</u>	17/189 9.0	-100 + 0 - ± 0	+ 70.5 ± 0 + - 29.4	+ 76.4 ± 23.5 - 0.0	+ 0.0 ± 5.8 - 94.1	+ 88.2 ± 11.7 - 0.0	+ 82.3 ± 5.8 - 11.7	+ 0.0 ± 4.70 - 52.9	+ 100.0 ± 0.0 - 0.0	+ 94.1 ± 5.8 - 0	+ 5.8 ± 17.6 - 76.4	+ 76.4 ± 0.0 - 23.5	+ 23.5 ± 64.7 - 11.7	+ 58.8 ± 17.6 v - 17.6	+ 11.7 ± 17.6 - 70.5	+ 70.5 ± 0.0 - 29.4	+ 58.8 ± 23.5 - 17.6	+ 76.4 ± 11.7 - 11.7
<u>S. simulans</u>	11/189 5.8	-100 + 0 - ± 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 8.8 ± 18.1 - 0	+ 0 ± 0 - 100	+ 90.9 ± 9.0 - 0	+ 27.2 ± 0 - - 27.2	+ 9.0 ± 18.1 - 72.7	+ 27.2 ± 9.0 - 63.6	+ 90.9 ± 0 + - 9.1	+ 27.2 ± 18.1 v - 54.5	+ 100 ± 0 + - 0	+ 63.6 ± 36.3 - 0.0	+ 27.2 ± 18.1 - 54.5	+ 90.0 ± 9.0 - 0	+ 54.5 ± 0.0 - 45.4	+ 18.1 ± 45.4 - 36.3	+ 81.8 ± 18.1 - 0.0
<u>S. hominis</u>	7/189 3.7	-100 + 0 - ± 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 71.4 ± 28.5 - 0.0	+ 0 ± 0 - 100	+ 85.7 ± 14.2 - 0	+ 85.7 ± 14.2 - 0.0	+ 0 ± 28.5 - 71.4	+ 100 ± 0 + - 0	+ 65.7 ± 0.0 - 14.2	+ 0 ± 0 - - 100	+ 71.4 ± 0.0 - 28.5	+ 0 ± 0 - 100	+ 85.7 ± 14.7 v - 0	+ 0 ± 14.2 - 65.7	+ 57.1 ± 0 (+) - 42.8	+ 85.7 ± 0 (+) - 14.2	+ 57.1 ± 28.5 v - 14.2
<u>S. saprophyticus</u>	5/189 2.6	-100 ± 0 - + 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 0 ± 0 - - 100	+ 100 ± 0 + - 0	+ 100 ± 0 + - 0	+ 40 ± 20 (+) - 40	+ 100 ± 0 (+) - 0	+ 0 ± 20 (-) - 80	+ 20 ± 40 - 40	+ 100 ± 0 (+) - 0	+ 40 ± 60 + - 0	+ 0 ± 0 - - 100	+ 0 ± 0 - - 100	+ 60 ± 0 + - 40	+ 40 ± 40 - 20	+ 100 ± 0 (+) - 0

a) Los resultados están dados en porcentajes

b) + = positivo, ± = débil, - = negativo, v = variable; símbolos para el crecimiento anaeróbico en tioglicolato; + = densidad uniforme, ± = gradiente de densidad a la luz en el fondo del tubo, - ± C = colonias grandes (individuales), c = colonias pequeñas o ausencia de crecimiento visible, v = variable (+, ±, ± C).

c) Los signos anotados a lo derecho de cada cuadro, son los establecidos por el esquema de Kloos y Schieffer para cada prueba bioquímica.

El espectro de resistencia a los antibióticos de las especies de esta filococos coagulasa-negativa fue como sigue:

Para la especie S. xylosus el porcentaje más elevado fue de 46 por ciento al antibiótico penicilina, siguiendo en segundo término una alta resistencia a cloranfenicol 37.5 por ciento y a gentamicina 29 por ciento, para S. epidermidis el más alto porcentaje de resistencia fue de 64 por ciento a penicilina siguiendo una resistencia de 52 por ciento a gentamicina y un 46.37 por ciento a cloranfenicol, en la especie S. haemolyticus se encontró una resistencia de 76 por ciento a penicilina siguiendo en segundo término un 47 por ciento de resistencia a gentamicina y en tercer término un 29.4 por ciento de resistencia a cloranfenicol, S. simulans presentó un 64 por ciento de resistencia a gentamicina y un 63.63 por ciento de resistencia a cloranfenicol, S. hominis tuvo un alto porcentaje de resistencia a eritromicina y S. saprophyticus en la que se destacó un 60 por ciento de resistencia a penicilina (tabla 5).

T A B L A 5

ESPECTRO DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVA

Antibiótico	a Valor de Corte Ug/ml	1 b (72)	2 b (69)	3 b (17)	4 b (11)	5 b (7)	6 b (5)
Cloranfenicol	16	37.5%	46.37%	29.41%	63.63%	42.84%	40%
Eritromicina	8	19.0%	28.0 %	12.0 %	9.0 %	43.0 %	20%
Gentamicina	8	29.0%	52.0 %	47.0 %	64.0 %	29.0 %	20%
Rifampicina	4	25.0%	7.24%	11.76%	18.18%	0 %	20%
Penicilina	2	46.0%	64.0 %	76.0 %	46.0 %	29.0 %	60%
Dicloxacilina	32	15.0%	9.0 %	6.0 %	27.0 %	0 %	20%
Cefalotina	16	14.0%	1.0 %	6.0 %	18.0 %	0 %	0%
Vancomicina	32	1.0%	1.0 %	6.0 %	0 %	0 %	0%

Notaciones: a) Nivel sérico alcanzado por cada antibiótico.

b) No. de cepas de cada especie de estafilococos coagulasa-negativa.

1 - S. xylosus

3 - S. haemolyticus

5 - S. hominis

2 - S. epidermidis

4 - S. simulans

6 - S. saprophyticus

Relación Clínica.

De las 189 cepas trabajadas, 181 se identificaron bacteriológicamente como estafilococos coagulasa-negativa las cuales se analizaron para obtener información clínica de 128 cepas que correspondieron a -- 116 pacientes pediátricos, con edades comprendidas de 1 a 16 años obteniendo la siguiente relación clínica:

Se consideró como contaminación 80 casos (68.96%), como infección 14 casos (12.06%) y como casos no determinados 22 (tabla 6)

T A B L A 6

RELACION CLINICA DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVA

Casos	No.	(%)
Contaminación	80	68.96
Infección	14	12.06
No determinados	22	18.96
T o t a l	116	100.0

De los 14 niños infectados por estafilococos coagulasa-negativa, 11 (78.5%) presentaron material extraño en el organismo o alguna malformación congénita del aparato digestivo o del sistema nervioso; de los casos considerados como contaminación, el 15 por ciento fueron sometidos a cateterismo venoso, 6.2 por ciento presentaron malformación del aparato digestivo o del sistema nervioso y un 1.2 por ciento presentó fistula arteriovenosa para hemodilisis. Hubo 3 pacientes sin factor predisponente.

El porcentaje excede del 100 por ciento en virtud de que el mismo paciente pudo tener más de un factor predisponente (en el caso de Infección, tabla 7)

T A B L A 7

FACTORES QUE PUEDEN CONDICIONAR INFECCIÓN O CONTAMINACIÓN POR ESTAFILO
COCOS COAGULASA-NEGATIVA

Factor	Infección No. de casos	(%)	Contaminación No. de casos	(%)
Cateter	8	57.1	12	15
Malformación	3	21.4	5	6.2
Otro material extraño	3	21.4	1	1.2
Sin factor pre- disponible	3	21.4	62	77.5
T o t a l	17		80	99.9

Los pacientes más afectados en el caso de infección fueron 9 (64.2%) cuyas edades fueron de 0 a 30 días, en el caso de contaminación fueron 50 (62.50%) en pacientes con edades de 0 a 12 meses y los restantes fueron 30 con edades comprendidas 1 años a 16 años, (tabla 8).

T A B L A 8

DISTRIBUCION POR EDADES DE LOS CASOS DE INFECCION Y CON
TAMINACION POR ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVA

<i>E d a d</i>	<i>Infección No. de casos</i>	<i>(%)</i>
<i>0 a 30 días</i>	9	64.2
<i>30 días a 12 meses</i>	5	35.7
<i>T o t a l</i>	14	99.9
<i>Contaminación</i>		
<i>0 a 30 días</i>	25	31.25
<i>30 días a 12 meses</i>	25	31.25
<i>12 meses a 2 años</i>	4	5.0
<i>2 años a 6 años</i>	9	11.25
<i>6 años a 12 años</i>	11	13.75
<i>12 años a 16 años</i>	6	7.50
<i>T o t a l</i>	80	100.0

T A B L A 9

FRECUENCIA DE ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVA EN INFECCION Y CONTAMINACION

Especie	Infección		CONTAMINACION	
	No. de cepas	(%)	No. de cepas	(%)
<u>S. xylosus</u>	11	52.28	35	41.66
<u>S. epidermidis</u>	6	28.57	31	38.66
<u>S. hominis</u>	2	9.52	2	2.38
<u>S. simulans</u>	1	4.96	4	4.76
<u>S. haemolyticus</u>	1	4.96	9	10.72
<u>S. saprophiticus</u>			3	3.57
T o t a l	21		84	

Se consideraron 14 casos de infección atribuible a estafilococos coagulasa-negativa, en los que se estudiaron 21 cepas, encontrándose que el 81 por ciento correspondieron a -- S. xylosus y S. epidermidis. En 80 casos (84 cepas) se consideró como contaminación y -- también el 79 por ciento correspondió a S. xylosus y S. epidermidis.

T A B L A 10

NUMERO DE CEPAS EN PRODUCTOS BIOLÓGICOS DE INFECCION Y CONTAMINACION

Casos	Productos Biológicos					
	Hemocultivos		L.C.R.		Otros	
	cepas	(%)	cepas	(%)	cepas	(%)
Infeción	17	14.5	3	60	1	16.6
Contaminación	81	69.2	2	40	1	16.6
No determinados	19	16.2	0	0	4	66.6
T o t a l	117	99.9	5	100	6	99.8

De los 116 casos estudiados se aislaron 117 cepas de hemocultivos de las cuales 17 cepas (14.5%) ocurrieron en infección y 81 cepas (69.2%) se consideraron como contaminación; en el resto 19 cepas (16.2%) no se pudo determinar su papel patogénico.

TABLA II

Frecuencia de especies de estafilococos coagulasa-negativa en productos biológicos de pacientes con infección (21 cepas) y Contaminación .

<u>Infección</u>	Productos biológicos						
Especie	Hemocultivos			L. C. R.		Otros	
	Frec.	(%)		Frec.	(%)	Frec.	(%)
<u>S. xylosus</u>	10	58.8		-	-	1	100
<u>S. epidermidis</u>	3	17.6		3	100	-	-
<u>S. hominis</u>	2	11.7		-	-	-	-
<u>S. simulans</u>	1	5.8		-	-	-	-
<u>S. haemolyticus</u>	1	5.8		-	-	-	-
Total	17			3		1	
<u>Contaminación</u>							
<u>S. xylosus</u>	35	43.2		-	-	1	100
<u>S. epidermidis</u>	29	35.8		1	50	-	-
<u>S. hominis</u>	2	2.4		-	-	-	-
<u>S. simulans</u>	4	4.9		-	-	-	-
<u>S. haemolyticus</u>	9	11.1		-	-	-	-
<u>S. saprophyticus</u>	2	2.4		1	50	-	-
Total	81			2		1	

D I S C U S I O N

El método simplificado de identificación bacteriológica diseñado por Kloos y Schleifer reunió suficientes pruebas pues permitió clasificar el 95.7 por ciento de las especies de estafilococos coagulasa-negativa, es conveniente hacer notar que desde el aislamiento se identificaron colonias características del género Staphylococcus de las cuales al efectuar la prueba de la coagulasa se les separó en dos grandes -- grupos de los que se consideró únicamente el grupo coagulasa-negativa para las subsiguientes pruebas.

En la tabla 4 se puede apreciar los resultados en los cuales la mayoría de las bioquímicas concordaron con la reacción que el esquema indicaba para cada especie de estafilococo coagulasa-negativa a excepción de la especie S. xylosus que presentó un 69.1 por ciento de positividad para la prueba de lisostafín que debió de ser negativa. S. -- epidermidis, en cuanto al carbohidrato trehalosa presentó un 36.23 -- por ciento de negatividad para lo cual el esquema indica que deberla ser el porcentaje más alto, la misma especie en turanosa deberla tener un alto porcentaje en +. S. hominis presentó en el carbohidrato-

galactosa, positividad de 85.7 por ciento y deberla ser un alto porcentaje en la reacción débil (+); una de las pruebas en la que hubo uniformidad en cuanto a resultados positivos fue la fructuosa, así también para las especies que con más frecuencia se aislaron (S. xylo sus y S. epidermidis) las reacciones dan altos porcentajes positivos. Una de las pruebas importantes que se han usado para la rápida identificación entre S. aureus y S. epidermidis es la susceptibilidad a Lisostafin; esta enzima se ha usado a una concentración de 2 Ug/ml adicionándola a cultivos de especímenes (líquido pleural, hemocultivos, líquido cefalorraquídeo) obteniéndose como resultado un 98.1 por ciento de positividad para S. aureus y un 100 por ciento de negatividad para S. epidermidis y S. saprophyticus (33). En el presente estudio la concentración usada de Lisostafin fue de 50 Ug/ml, obteniéndose altos resultados positivos para las especies identificadas, menos para S. simulans para la cual se encontró negatividad de 63.6 por ciento. Estos resultados pueden explicarse por la mayor concentración de Lisostafin usada o quizá también por haber utilizado diferentes condiciones de a los del artículo original.

En general los resultados concuerdan con lo reportado por la literatura para el aislamiento e identificación de estafilococos coagulasa-negativa, aunque hubo algunas variantes.

Debido a la variación que hubo en los datos positivos de las pruebas bioquímicas se quiso saber si había o no diferencia estadística entre las pruebas bioquímicas, para ello se hizo un análisis de varianza de dos factores fijos y una observación por casilla (36, 37) teniendo -- las siguientes hipótesis:

H_0 - No hay diferencia entre las especies de estafilococos coagulasa-negativa.

H_0 - No hay diferencia entre las pruebas bioquímicas.

H_1 - Al menos una de las especies de estafilococos coagulasa-negativa es diferente.

H_1 - Al menos una de las pruebas bioquímicas es diferente.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

Factor de variación	gl	S.C.	M.C.	Fe	Ft	Decisión
Factor A columnas especies	5	5305.1	1061	1.68	1.34 1.92 3.95	Se acepta H_0 y se rechaza H_1 con $0.10 < P < 0.25$
Factor B filas Pruebas Bioquímicas	13	32484.7	2498	3.99	2.42	Se rechaza - H_0 y se acep- ta H_1 con P de < 0.001
Error o discre- pancia	65	40823.8	628			

De la tabla anterior se puede concluir lo siguiente:

- 1.- Se encontró diferencia estadística al comparar los resultados positivos de las pruebas bioquímicas entre sí con respecto a las especies identificadas.
- 2.- No se encontró diferencia estadística al comparar los resultados positivos de las especies entre sí con respecto a las pruebas bioquímicas.

Como el método anterior no identifica cual de las pruebas bioquímicas es diferente, se procedió a hacer comparaciones múltiples por el método de Scheffé (36) obteniéndose que las medias X_7 (Hemólisis en sangre de carnero), X_9 (Ribosa), X_{15} (Manosa) son las que con mayor frecuencia determinan diferencia en cuanto a los resultados positivos, ya observados en el ANOVA.

Según los resultados mencionados en la tabla 3 y 4 las especies que se aislaron con mayor frecuencia fueron S. xylosus (38.1%) y S. epidermidis (36.5%), la frecuencia de S. epidermidis coincide con la biotipificación de aislamientos clínicos reportados por Curtis G. Gemmel (6), pero se encontró una mayor frecuencia S. xylosus. Brun, J. Fleurette y Forey en otra investigación para aislamientos clínicos usando el esquema de Kloos y Schleifer encontraron 71.4 por ciento de S. epidermidis.

Solamente el 4.2 por ciento de las cepas no se pudieron clasificar -- porque no reunían o estaba en duda las características necesarias para su identificación.

In vitro el porcentaje de resistencia a diferentes antimicrobianos --

fue elevado mencionándose en primer término la resistencia que presentan a penicilina (tabla 5) y que coincide con los reportes que han hecho múltiples autores (6, 13, 22, 29). El esquema antibiótico utilizado en nuestro medio para el tratamiento de las infecciones por estos gérmenes es la combinación de dicloxacilina más gentamicina, antibióticos para los cuales se ha encontrado resistencia moderada. Es útil notar que la mayor susceptibilidad fue a vancomicina, antibiótico que fue considerado como el de elección para estos problemas, aunque no existe en comercio en México.

Al analizar los aislamientos bacteriológicos con los criterios establecidos se encontró que el 68 por ciento correspondieron a contaminación y solamente el 12 por ciento se pudo establecer relación entre el microorganismo y el proceso infeccioso y en el 18 por ciento fue imposible determinar si se trataba de contaminación o infección. La frecuencia de contaminación coincide con lo encontrado por R. A. Forse, en el que indica diversos porcentajes de S. epidermidis es considerado como agente contaminante (10, 11) (tabla 7).

Los niños afectados por estos gérmenes tuvieron características de --

edad muy específicas (0 a 30 días) por lo que se piensa que fueron -- propensos a infección por estos microorganismos por sus deficiencia - en su sistema inmunitario no bien desarrollado en esa etapa de su vida (tabla 8).

Las especies predominantes en los casos de infección y contaminación fueron semejantes ya que ambos grupos S. xylosum y S. epidermidis --- constituyeron el 80.09 por ciento de los aislamientos (tabla 9). Así también las especies que se encontraron con más frecuencia en hemocultivos fueron S. xylosum y S. epidermidis (tabla 10 y 11).

C O N C L U S I O N E S

- 1.- El método propuesto por Wesley E. Kloos y Karl H. Schleifer permite clasificar el 95.7 por ciento de las especies de estafilococos coagulasa-negativa.
- 2.- Las especies predominantes en una comunidad hospitalaria pediátrica fueron: S. epidermidis y S. xylosum.
- 3.- El antimicrobiano Vancomicina fue el que tuvo menos porcentaje de resistencia *in vitro* y por lo tanto de elección para el tratamiento de estas infecciones.
- 4.- Solamente el 12 por ciento de los casos se pudo establecer una -- relación clínica y en el 68 por ciento se consideró como contaminación.
- 5.- La mayor proporción de los casos con probable relación clínica -- (64.2%) ocurrió en el grupo de recién nacidos y el 78.6 por ciento tuvieron factor predisponente (presencia de material extraño -- en el organismo).

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Buchanan H.E., Gibons N.E., *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Ed. Board, eighth edition, 478-89, 1974.
- 2.- Kloos W.E., Schleifer K.N., *Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species*, *J. Clin. Microbiol.*, 1:82-8, 1975.
- 3.- Pereira T., *Coagulase negative of Staphylococcus possessing antigens 51 as agents of urinary infection*, *J. Clin. Path* 15:253, 1962.
- 4.- Cowan S.T., *Manual for the identification of medical bacteria* --- Cambridge University press London, second edition, 47-50, 1974.
- 5.- Baird Parker A.C., *Classification of micrococci and Staphylococci based in biochemical test*, *J. Gen. Microbiol.*, 30:409-27, 1963.
- 6.- Gemmel C.G., *New development among the coagulase-negative Staphylococci*, *Clin. Microbiol. News*, 2:5-7, 1980.
- 7.- Noble W.C., *Staphylococcus epidermidis; comensal or pathogen*, --- *Int. J. Dermatol.*, 17:212-5, 1978.
- 8.- Feigin R.D., Shackelford P.G., Capell J., Lyles T.O. Schechter -- M., Lins R.D., *Assessment of role of Staphylococcus epidermidis* -

- as cause of otitis media, *Pediatrics*, 52:569-76, 1973.
- 9.- Brun V., Fleurette J., Forey F., *Micromethod for biochemical --- identification of coagulase-negative Staphylococci*, *J. Clin. Microbiol.*, 8:503-8, 1978.
 - 10.- Forse R.A., Dixon R.N., Bernard K. Martinez L. et al., *Staphylococcus epidermidis an important pathogen, surgery*, 507-14, 1979.
 - 11.- Mc Laughlin B., Cristensen G., Hester M., Parisi J., Bisno A. -- *Staphylococcus epidermidis sepsis asociated with intravascular - catheters*, In abstrac of original papers 7h annual education conference APIC, San Francisco, 1980.
 - 12.- Keys T.F., Mewitt W.I., *Endocarditis due to micrococci and Sta--phylococcus epidermidis*, *Arch. Inter. Med.*, 132:216-20, 1973.
 - 13.- Kjellander J.O., Kloin J.O., Finland M., *In vitro activity of -- penicillins against Staphylococcus albus*, *Proc. Soc. Exp. Med.*, - 113:1023-31, 1963.
 - 14.- Holt R.J., *Bacteriological studies on colonized ventriculoatrial shunts*, *Dev Med. Child. Neurol.* 1979; 12 sup 22:83-7.
 - 15.- Williams D.N. Peterson P.K., Veroek J., Lavediere M., Sabath L.

- D., Endocarditis caused by coagulase-negative Staphylococci, *Infection* 7:5-9, 1979.
- 16.- Schoendaun S.C., Gardner P., Shillito J., Infection of cerebrospinal fluid shunts, Epidemiology clinical manifestations and the rapy, *J. Infect. Dis*, 132:543-52, 1975.
- 17.- Shurtleff D.B., Foltz E.L., Weeks R.D. and Losser J., Therapy of Staphylococcus epidermidis; Infections associated with cerebrospinal fluid shunts. *Pediatrics*, 53:55-62, 1974.
- 18.- Mitchel R.G., Classification of Staphylococcus albus strains --- from urinary tract, *J. Clin. Path.*, 21:93-6, 1968.
- 19.- Sherestha T.L., Darrel J.H., Urinary infection with coagulase-negative Staphylococci in teaching hospital, *J. Clin. Path.*, 32:--299-301, 1979.
- 20.- Maskell R., Importance of coagulase-negative Staphylococci as -- pathogen in urinary tract, *Lancet*, 1:1155-8, 1974.
- 21.- Sellin M., Cocke D.I., Gillespie °.A., Sylvester D.F. Anderson - J.D., Micrococci urinary tract infections in young women, *Lancet* 2:570-2, 1975.

- 22.- John J.F., Gramling P., O'Dell N.M., Species Identification of coagulase-negative Staphylococci from urinary tract isolates, - J. Clin. Microbiol., 435-7, 1973.
- 23.- Hermansen G., Bellgren I., Bergstrom T., Winberg J., Coagulase-negative Staphylococci as cause of symptomatic urinary infections in children, J. Pediatr., 84:807-10, 1974.
- 24.- Paterson F.P., Brown C.S., The Farrar total hip replacement, J. Bone Joint. Surg., 54:257-75, 1972.
- 25.- Wilson T.S., Stuart R.D. Staphylococcus albus in wound infection and septicemia, Canad. Med. Ass. J., 93:8-16, 1965.
- 26.- Liekeg W.G., Greenfield L.J., Vascular prosthetic infections -- collected experience and results of treatment, Surgery 81:335-42 1977.
- 27.- Ebrigt K.R., Rytel W., Intra-abdominal abscess caused by Staphylococcus epidermidis, Arch. Surg., 115-26, 1980.
- 28.- Mancusi-Ungaro H.R., Treatment of necrotizing fasciitis caused by Staphylococcus epidermidis, Arch. Surg., 113-282, 1978
- 29.- Sabath L.D., Gardner C., Willox C. Finland, Susceptibility of --

- Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis to 65 anti-biotics, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 9:962-9, 1976.
- 30.- Lavediere M., Peterson P.K., Veroeff J., In vitro activity of cephalosporins against-methicillin-resistance coagulase-negative -- Staphylococci, *J. Infect. Dis.*, 137:245-50, 1978.
- 31.- Macfaddin J.F., Biochemical test for identification of medical - bacteria, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1975.
- 32.- York M.K., Identification of Staphylococcus aureus by Lysosta---phin sensitivity, *Clin. Microbiol. Newslwt.*, 3:38, 1981.
- 33.- Severance P.J. Kauffmen C.A., Effect of various blood culture-me-dia on Lysostaphin sensitivity of Staphylococci, *J. Clin. Micro-biology*, 12:709, 1980.
- 34.- Barry A.L., The antimicrobi susceptibility test, Lea and Febiger Philadelphia, Secc. II and Secc. IV, 1976.
- 35.- Oeding O. Digramens A., Clasifcation of coagulase-negative Sta-phylococci in diagnostic laboratory, *Act. Path. Microbiol.*, ----85:136-42, 1977.
- 36.- Glass G.V., Stanley J.C., Estadlstica aplicada a las ciencias so

ciales, Edit. Fondo Interamericano, 387-97, 1974.

- 37.- Sokdal R.R., James R.F., *Introducción a la bioestadística, ---*
Edit. Reverté S.A., España, 183-97, 1980.