

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A
CRIOTECA®
PLAQUIS®
M-IDENT®
NEOGRAM

COSMETIKIT®
CHROMOSALM
KITPRO-PLUS
SEILAGUA®
ENVIROCOUNT

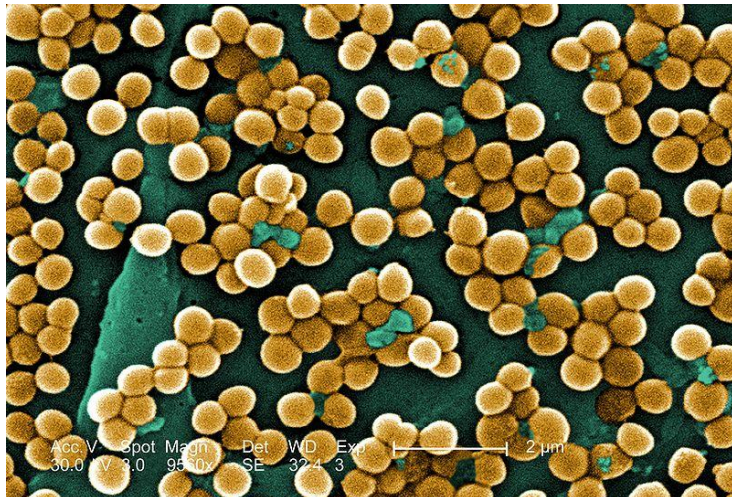
DRY PLATES®
DESINFECTEST®
CROMOKIT®
SALMOQUICK

MUGPLUS
CCCNT
MBS
AIREANO

MONOGRAFÍA *Staphylococcus aureus*

1-El microorganismo y su interrelación con el ser humano

Staphylococcus aureus (abreviado *S.aureus* o *St.aureus* y popularmente conocido como estafilococos dorado) es un coco Gram positivo (se tiñe de azul-violeta en Gram al microscopio y no filameta en Neogram directo en la colonia) cuyas células coloniales se agrupan en forma de racimos cuando se miran al microscopio. Se comporta como facultativa (aerobia o anaerobia a conveniencia). La mayoría de sus cepas son coagulasa positivas, termonucleasa positivas, oxidasa negativas y catalasa positivas. No tiene flagelos (es inmóvil) ni necesita esporas (su diminuta célula esférica ya es en si una forma de resistencia). Se desarrolla rápidamente en todos los medios de cultivo convencionales, fermenta lentamente carbohidratos, como el manitol, pero sin producir gas. Produce pigmentos que varían de unas cepas a otras y de unos medios a otros, desde un color blanco hasta un amarillo intenso.



Racimos al microscopio desde colonias de *St.aureus*.
 Foto liberada wikipedia

Aparte de otros muchos hábitats (se considera ubicuo), se encuentra como comensal en la piel y mucosas de cerca del 30% de personas (portadores asintomáticos) junto con otros estafilococos no patógenos (*S.epidermidis*, *S.hominis* y otras muchas cepas que provocan el olor a sudor, normalmente más acentuado en los varones por tener mayor proporción de *S.hominis* y *S.aureus*). Esta bacteria se localiza en el cuerpo humano en el interior de la nariz, pliegues (ingles, perineo, axilas...) y vagina. Dado su ligero tamaño (0,5 a 1 µm de diámetro), todos ellos viven sin problema suspendidos en el aire (no "caen"), vía por donde se transmiten.

St.aureus puede producir una amplia gama de enfermedades, sobre todo en personas inmunodeprimidas, que van desde infecciones de la piel y mucosas: foliculitis (infección en los

orificios de los folículos pilosos, con lesiones dolorosas, rojizas y pequeñas), forunculosis (granos con pus amarillo), conjuntivitis..., a otras enfermedades (celulitis, mastitis, abscesos profundos, osteomielitis...) e incluso a enfermedades sistémicas mortales (sepsis, meningitis, endocarditis, neumonía...). La Toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1) es una toxina termoestable y resistente a proteólisis que actúa como un superantígeno. Esta patología está asociada con la infección de una herida por *S. aureus*. Provoca una mortalidad elevada en ausencia de tratamiento.

Además, provocan toxiinfecciones alimentarias incluso cuando ya no están presentes en el alimento: el calor destruye sus células, pero el 30% de cepas de *S. aureus* puede producir una enterotoxina muy termoresistente, en correlación con la termonucleasa, estable incluso al calentar los alimentos más de 100 °C durante 30 minutos, además es resistente a la hidrólisis por enzimas gástricas y pancreáticas). De ahí que su ausencia no implique necesariamente que un alimento sea comestible, si ha estado presente en sus materias primas o antes del tratamiento térmico en el producto final). Esta realidad se tiene en cuenta en alimentos, pero no en otras matrices que no se ingieren (aguas de baño y cosméticos). ¿Qué sucede en medicamentos? La intoxicación provoca vómitos intensos, diarrea y cólicos que inician entre 2 y 6 horas después de la ingesta. La resolución es rápida (menos de 24 h).

Es el mayor agente actual de infecciones nosocomiales (adquiridas por los pacientes en los propios hospitales), debido a su resistencia a diversos antibióticos, incluidas las penicilinas (el 80% de *S. aureus* en la actualidad es resistente a la penicilina), entre ellas Meticilina y Oxacilina, la primera de las cuales le ha dado a esta bacteria su nombre clínico de moda: MRSA o SARM (siglas de *St. aureus* Meticilin Resistente). Las β lactamasas son enzimas que inactivan a la penicilina, uno de los mecanismos de defensa de SARM. Estas enzimas pueden inhibirse para así evitar que destruyan a las penicilinas susceptibles, lo cual se logra mediante la adición de ácido clavulánico junto con la penicilina. Esta bacteria es uno de los mejores ejemplos de la guerra sin fin entre los microorganismos y el hombre con los diferentes antibióticos aplicados desde que se descubrieron.

2-Los tipos de productos donde la legislación exige su búsqueda o recuento, así como otros tipos de productos donde a nuestro criterio, sería recomendable analizarlos

Medicamentos

Cosméticos

Aguas de baño (en algunas CCAA)

Los siguientes alimentos: caldos, cremas, carnes refrigeradas, congeladas o picadas (y derivados), jamón cocido, productos de la pesca, comidas preparadas con y sin tratamiento térmico, productos dietéticos, semiconservas, cuajo, vegetales congelados, galletas, gelatinas, productos lácteos y helados derivados de lácteos, horchata, levadura, ovoproductos, pastelería, bollería, confitería, repostería, aperitivos, turrone, mazapanes

A nuestro entender, debería buscarse además en todo alimento manipulado por personas y en aguas de baño en todas las CCAA. Del mismo modo, en todo alimento y medicamento oral deberían buscarse las cepas termonucleasa positivas.

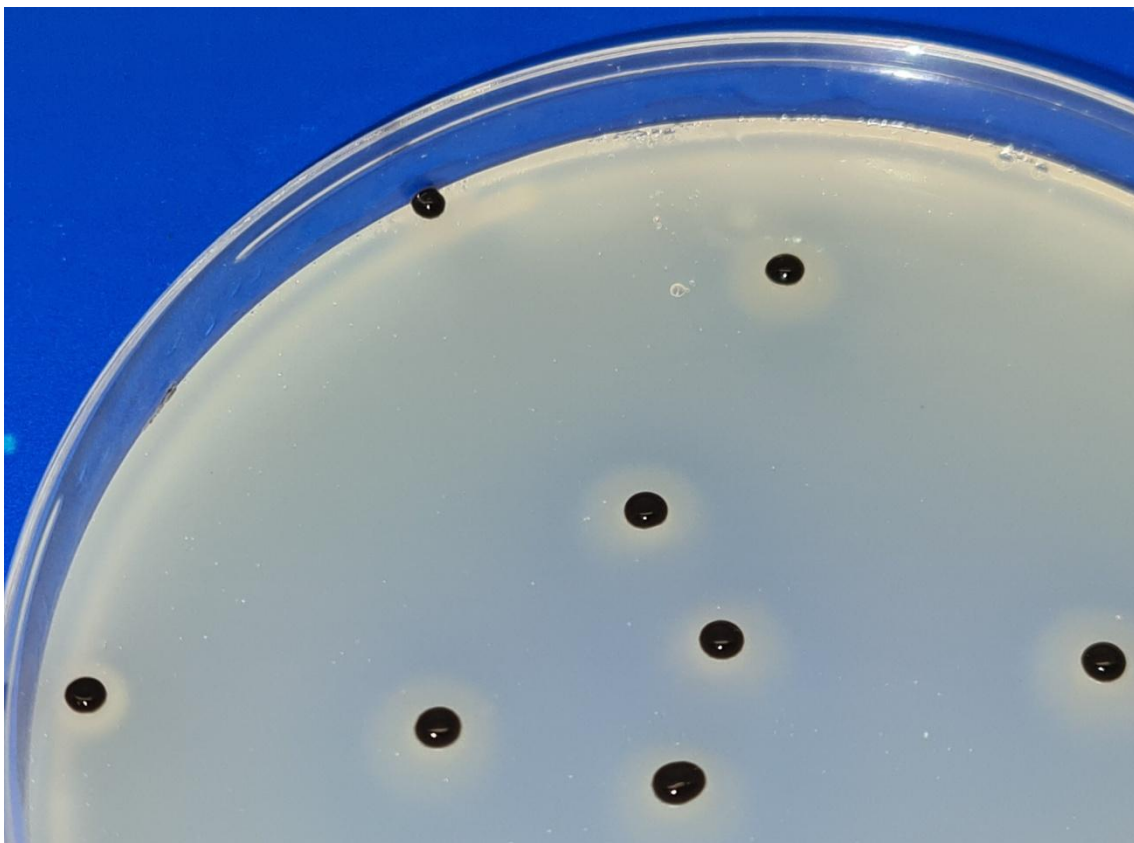
3-Los métodos oficiales para su detección/recuento

Pharmacopea en medicamentos: Mannitol Salt Agar o Vogel Johnson Agar (el Baird Parker Agar fue eliminado) y coagulasa

No existe método oficial en cosméticos, aunque muchos laboratorios siguen la Norma Técnica ISO que invita al uso de Baird Parker Agar, lo cual genera numerosos resultados falsamente positivos y falsamente negativos, al ser un medio diseñado para eliminar una alta carga acompañante (alimentos) sin tener en cuenta las cepas estresadas/subletales de *S.aureus*

No existe método oficial en aguas de baño y por extrapolación suele emplearse filtración de membrana sobre Baird Parker Agar (mismas salvedades que hemos indicado en cosméticos)

ISO 6888 en alimentos, con Giolitti Cantoni para enriquecimiento y Baird Parker Agar para aislamiento y recuento. Coagulasa.

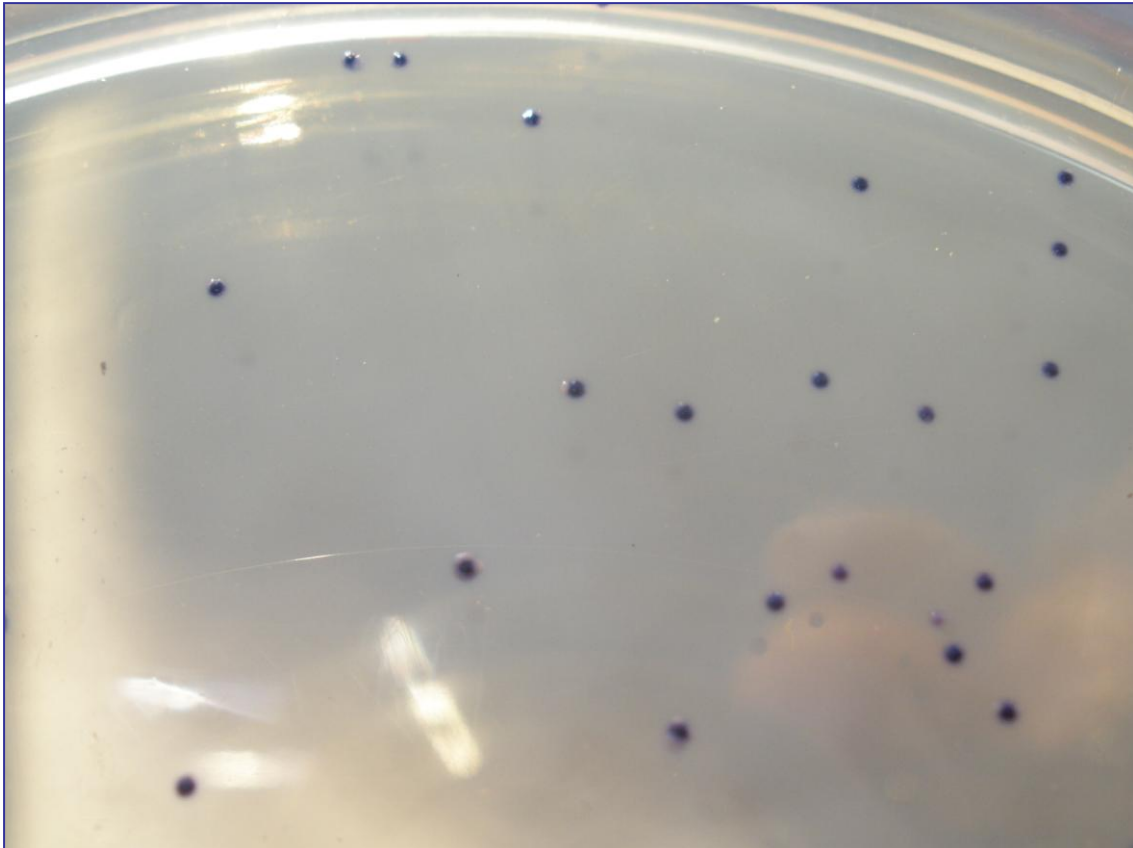


St.aureus típico en Baird Parker: Colonias grandes, negras por el telurito potásico, con reborde blanco y halo claro en el medio por lisis de la lecitina de la yema de huevo

4-Los métodos alternativos que mejoran la rapidez de los resultados y la robustez del análisis

El caldo **Manitol Salt Broth** permite un enriquecimiento más selectivo que el Giolitti-Cantoni Broth (y por supuesto que el TSB, agua de peptona, LPT Broth...) cuando la carga de microbiota acompañante es elevada y en vez de recuento, se busca la ausencia de *S.aureus*.

El descubrimiento en la última década del siglo pasado de los agares cromogénicos permite una detección mucho más fiable (enzimática, en vez de la bioquímica que es propia de los medios de cultivo convencionales). Por ejemplo el **XStaph Agar** detecta con mayor fiabilidad



S.aureus, en XStaph agar, colonias pequeñas, azul oscuro con muy elevado grado de certeza

que el Baird Parker, el Vogel Johnson o el Manitol Salt Agar las cepas de estafilococos. En dicho medio, *S.aureus* crece con pequeñas colonias azul oscuro o violeta (a veces con viraje hacia el púrpura), mientras las demás cepas de estafilococos crecen con pequeñas colonias azul turquesa o verdosas. Pueden crecer especies de *Bacillus* con tonos azulados, pero lo hacen con colonias muy grandes, nada similares a las de estafilococos

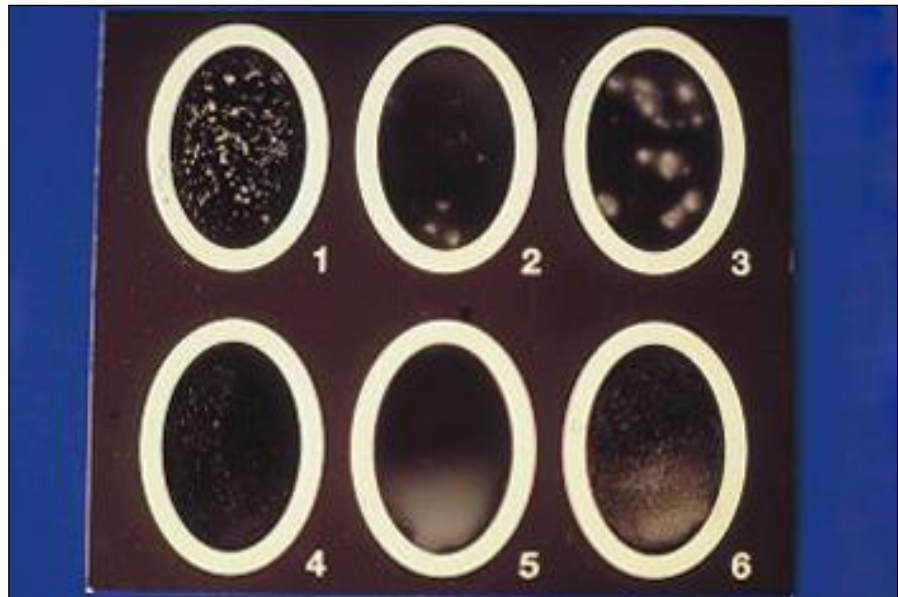
La coagulasa está presente en la mayoría de las cepas de *S. aureus*, y constituye una prueba muy sensible y específica para esta bacteria. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse (semejando a las plaquetas) y formar grupos. Los **látex de coagulasa** permiten detectarla en escasos segundos a partir de las colonias sospechosas. Los medios que incluyen detector de coagulasa (rpf) demuestran en intercomparación no interpretarse bien por parte de sus usuarios (cerca del 50% de falsos positivos y del 50% de falsos negativos).

Látex coagulasa:

1, 4: Positivos, fuerte y suave (grumos sin fondo lechoso).

5, 6: Negativo (fondo lechoso, sin o con aglutinación).

2, 3: Negativo s falsamente positivos (restos de colonias, pelusas, grumos difusos con aspecto lechoso).



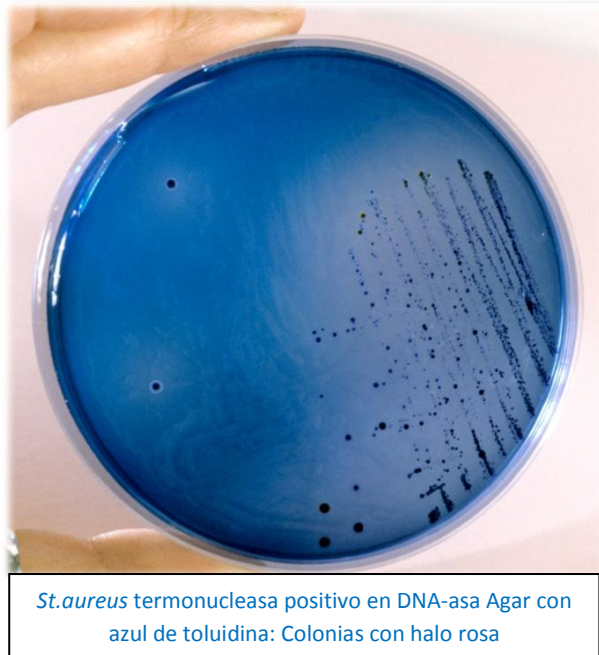
En la prueba para detectar la **catalasa**, al aplicar peróxido de hidrógeno a la colonia, en la mayoría de cepas de *S.aureus* se nota la aparición de pequeñas burbujas de oxígeno, pero hay algunas cepas catalasa negativas, y casi todos los aerobios y facultativos son catalasa positivos, por lo que es una prueba menos específica que la coagulasa.



En la prueba de **fermentación de manitol**, el cambio de color de naranja a amarillo indica el empleo del manitol (Agar Manitol Hipersalino). Pero muchas cepas de *S.aureus* no fermentan el manitol, por lo que dan falso negativo en este medio; y muchas de otras cepas sí lo fermentan, por lo que dan falso positivo en este medio.

Las cepas que generan **enterotoxina termoresistente** se detectan gracias al agar DNA-asa, que se convierte en agar termonucleasa al añadir azul de toluidina, para mejor visualización de los halos de lisis que provocan las colonias en el ADN presente en el medio cuando se añade HCl.

La detección concreta de las enterotoxinas en las cepas de *S. aureus* tiene un costo elevado. Por esta razón generalmente no se realiza y se asume que las cepas productoras de coagulasa y termonucleasa son enterotoxigénicas.



St.aureus termonucleasa positivo en DNA-asa Agar con azul de toluidina: Colonias con halo rosa

5-Cómo vemos el futuro en la detección de esta cepa

Dada la facilidad de intercambio genético entre células de diferentes especies de estafilococos, en vez de *S.aureus* proponemos buscar estafilococos patógenos (coagulasa positivos, con motivo de la facilidad de uso de látex de respuesta prácticamente inmediata). Esto acabaría con la incongruencia de la Norma ISO 6888, que dice que *S.aureus* forma colonias negras con borde blanco y halo de lisis en BairdParker, pero a veces las colonias crecen sin halo, a veces no son negras... Y permitiría el uso con mayor fiabilidad de medios enzimáticos (cromogénicos) como XStaph Agar, haciendo la coagulasa a cualquier colonia diminuta, fuese azul-violácea, fuese azul-turquesa o verdosa.

Aunque la prueba de la DNA-asa no es inmediata, se debería añadir a la de la coagulasa en alimentos y medicamentos orales, para demostrar la ausencia de enterotoxina estafilocócica que podría haber sido dejada como contaminante por células de *St.aureus* que estuvieron presentes en alguna de las materias primas y ya no lo están.