

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA - LEÓN
Facultad de Ciencias Médicas



**“Perfil de resistencia a antimicrobianos de Staphylococcus aureus
resistentes a meticilina”**

**Tesis para optar al título de
Especialista en Pediatría**

Autora: ***Dra. María Eugenia Lara Toruño.***

Tutores: ***Dra. Mercedes Cáceres PhD.***
Especialista en Microbiología.

Dr. Sergio Valle Dávila.
Especialista en Pediatría.

Asesor: ***Dr. Arnoldo Toruño Toruño.***
Especialista en Salud Pública.

Marzo 2003.

A mis hijos
Alberto Xavier, María Belén y
Eugenio Valentín

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que contribuyeron en la realización de este trabajo:

Dra. Mercedes Cáceres quien con su profesionalismo, alta calidad científica e incondicionalidad permanente constituyó la piedra angular de este logro.

Dr. Sergio Valle Dávila por sus valiosos aportes constituyendo un importante apoyo en la culminación del estudio.

Dr. Arnoldo Toruño por los aportes metodológicos y científicos brindados.

De manera muy especial a mi esposo, *Lic. Pedrarias Dávila P* y mi hermano, *Dr. Xavier A. Lara*, quienes con su cariño y paciencia me acompañaron en los momentos de mayor tensión.

A todos, Muchas Gracias.

INDICE

INDICE	1
INTRODUCCIÓN	6
MARCO DE REFERENCIAS	9
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	10
SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE STAPHYLOCOCCUS SP.	13
IDENTIFICACIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE MICROORGANISMOS	14
MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA	16
PORTADORES SANOS	20
OBJETIVOS	23
MATERIAL Y MÉTODO	24
ÁREA DE ESTUDIO	24
PERÍODO DE ESTUDIO	24
TIPO DE ESTUDIO	24
POBLACIÓN DE ESTUDIO	24
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	24
FUENTE	24
MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	25
COLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS	25
PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	25
PLAN DE ANÁLISIS	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE <i>STAPHYLOCOCCUS</i> AISLADAS EN PACIENTES DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA	27
METICILINA	28
TRIMETROPRÍM SULFAMETOXAZOL:	32
VANCOMICINA:	33
PENICILINA	34

GENTAMICINA	35
PREVALENCIA DE PORTADORES SANOS.	36
CONCLUSIONES	39
RECOMENDACIONES	40
ANEXOS	41
ANEXO 1 FICHA RECOLECTORA DE DATOS	41
PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE <i>STAPHYLOCOCCUS SP.</i>	41
ANEXO 2 FICHA RECOLECTORA DE DATOS	42
PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE <i>STAPHYLOCCOCUS SP.</i> EN PORTADORES SANOS	42
REFERENCIAS	43

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas constituyen las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo, donde vive el 75% de la población mundial. De los 9,2 millones de muertes ocurridas en estos países 3,5 millones fueron causadas por enfermedades parasitarias e infecciosas. Las infecciones del tracto respiratorio bajo y las enfermedades diarreicas constituyeron la tercera y cuarta causa más importante de muerte, respectivamente, a nivel mundial. El 99% de las muertes infantiles que ocurren en los países en vías de desarrollo, ocurren como resultado de procesos infecciosos¹.

Desde la introducción de los antibióticos, la mortalidad por enfermedades infecciosas ha disminuido notablemente, sin embargo, el uso inadecuado de estos fármacos ha aumentado dramáticamente la resistencia a los mismos en la mayor parte del mundo, constituyendo esta situación un problema de salud pública de creciente importancia. La resistencia a múltiples antibióticos es una característica de la década presente y encontrar organismos resistentes a diez antibióticos diferentes es común hoy en día.

Los organismos resistentes a antibióticos están presentes en hospitales principalmente, constituyendo verdaderos almacenes de bacterias resistentes a múltiples drogas; entre los que se encuentran ***Streptococcus pneumoniae***, ***Mycobacterium tuberculosis*** y ***Escherichia coli***, que además causan infecciones adquiridas en la comunidad.

Las bacterias resistentes de los hospitales pueden ser introducidas en la comunidad. Se estima que al menos el 5% de los pacientes que son dados de alta para continuar tratamiento ambulatorio se llevan con ellos ***Staphylococcus aureus*** multiresistentes y ***enterococos*** resistentes a vancomicina.

En la actualidad se relaciona muy estrechamente el fenómeno de resistencia antimicrobiana al uso de antibióticos².

En Nicaragua, como en la mayoría de los países en vías de desarrollo, el uso de fármacos antimicrobianos para uso de animales y humanos no es regulado por las instituciones de salud, pudiendo ser comprados en farmacias, tiendas y supermercados. Por otro lado, los pacientes generalmente no toman los esquemas terapéuticos completos cuando son prescritos por el médico, constituyendo ambos elementos, factores que contribuyen a la magnificación del problema.

El surgimiento de la resistencia bacteriana a diversos antibióticos, es un problema que requiere del esfuerzo en conjunto de quienes tratan al paciente. Con el aporte de laboratorios de microbiología clínica se cuenta con la posibilidad de reconocer oportunamente la resistencia.

Estudios previos realizados en León, mostraron una alta prevalencia de cepas de bacterias resistentes en la microflora gastrointestinal normal de adultos y niños³. Los ***Bacteroides sp*** fueron cepas altamente resistentes contra penicilinas y cefoxitina^{4, 5}. La microflora intestinal normal es la principal fuente de patógenos endógenos. El surgimiento de cepas resistentes en la microflora del tracto gastrointestinal ha tenido un enorme impacto en la selección de los agentes antimicrobianos en la terapia empírica y es un factor importante en la diseminación de organismos resistentes a otros pacientes.

Los patrones de susceptibilidad de cepas aerobias y anaerobias comúnmente encontrada en infecciones mixtas en Nicaragua demostró un alto nivel de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos más comúnmente usados como antibióticos beta lactamasa. Los ***Bacteroides fragilis*** fueron los anaerobios más comúnmente aislados. El 56% de éstos fueron resistentes a la ampicilina, el 28% a la cefoxitina y el 25% a la clindamicina.

Otros gérmenes como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *Klebsiella sp.* fueron resistentes a la penicilina benzatínica, ampicilina y gentamicina. El 29% de los *Staphylococcus aureus* fueron resistentes a meticilina (MRSA). La producción de beta lactamasa fue uno de los mecanismos de resistencia mas importantes encontrados en este estudio⁶.

El manejo de programas de resistencia antimicrobiana requiere, entrenamiento del personal de laboratorio clínico y control de calidad de las muestras procesadas , que no siempre es posible en países como Nicaragua. Los procesos infecciosos de los pacientes en la mayoría de los centros hospitalarios son tratados sin la ayuda de reportes de laboratorio, desde un punto de vista netamente sindrómico, por lo que no es posible contar con datos que permitan realizar vigilancia de la resistencia de las bacterias a los fármacos antimicrobianos, ni tampoco es posible utilizar esta información para la realización de estrategias de intervención.

El presente estudio tiende a contribuir a llenar este vacío, facilitando en primer lugar el conocimiento del perfil de resistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* ante cinco fármacos de amplio uso en el departamento de Pediatría, así como la tipificación molecular de las cepas encontradas.

De igual manera, permitirá la identificación del papel que juegan los portadores sanos en la diseminación de las cepas resistentes, permitiendo establecer un sistema de vigilancia de resistencia antimicrobiana y crear un protocolo de atención a pacientes con infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* basado en el perfil de resistencia local.

MARCO DE REFERENCIAS

Los *Staphylococcus* son bacterias Gram positivas, aerobios o anaerobios facultativos que pertenecen a la familia *Micrococcaceae* que incluye a los cocos Gram positivos catalasa positivos, junto con los géneros *Micrococcus*, *Stomatococcus* y *Planococcus*. Miden aproximadamente un micrómetro de diámetro, son inmóviles, carecen de esporas y crecen en racimos, aunque también pueden agruparse en pares, tétradas o formar cadenas⁷.

El género *Staphylococcus* incluye actualmente 32 especies y 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas, con la excepción de *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie *anaerobius*, que son anaerobias estrictas. De éstas, sólo aproximadamente 12 se encuentran normalmente colonizando al huésped humano, siendo *S. aureus* sin duda, la principal dentro del mencionado género. Crecen bien en los medios de cultivo habituales, muestran β -hemólisis en medios con sangre, y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de NaCl (medio selectivo de Chapman)⁸.

En un tiempo se pensó que solo las especies que producen enzima catalasa y proteína A, como el *Estafilococo aureus*, eran las únicas capaces de desarrollar cuadros mórbidos; hoy se conoce que aquellas especies que no producen las proteínas mencionadas ni poseen actividad proteolítica, ni capacidad de fermentar el manitol, también son causas importantes de infecciones hospitalarias y de las vías urinarias en la infancia⁹. A estas especies se les conoce de forma colectiva como *Staphylococcus Coagulasa Negativa* (ECN); anteriormente conocidas como *Staphylococcus albus* ya que en los medios de cultivo producen pigmento de color blanco¹⁰.

Las especies representativas de los ECN son tres principalmente: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hemolyticus* y *Staphylococcus saprophyticus*.

Staphylococcus aureus

Las principales características identificativas de **S. aureus** que sirven para su diferenciación de otras especies del género son: i) producción de coagulasa; ii) sensibilidad al disco de 5 mg de novobiocina; iii) actividad fosfatasa alcalina; iv) producción aeróbica de ácido a partir de D-trealosa y D-manitol, y v) producción de desoxirribonucleasa termoestable. Las cepas de **Staphylococcus aureus** dan positivas, además, las siguientes reacciones: b -glucosidasa, arginina descarboxilasa, N-acetilglucosamina, acetoína, reducción de nitratos, ureasa y resistencia a la polimixina B (disco 300 U) (Kloos y Bannerman, 1995).

Poseen una cápsula tan delgada que ha sido llamada micro cápsula que se adhiere firmemente a la bacteria. La mayoría de las cepas patógenas cuentan en su cápsula con dos polisacáridos (5 y 8) lo que hace suponer que ambos juegan un importante papel en la patogenia. En su pared celular, los **Staphylococcus aureus** cuenta con compuestos péptidoglicanos, ribitol, ácido teicoico y proteína A. Componentes que poseen actividad antigénica.

La proteína A se une a la porción Fc de los anticuerpos (*Ig G*) lo que interviene en la pobre eficacia con la que los **Staphylococcus aureus** son opsonizados y fagocitados.

El **ácido teicoico** es una proteína formada por cadenas de tamaño variable de hasta más de treinta polímeros unidos por puentes fosfodiésteres. El ácido teicoico es el principal antígeno de superficie de los **Staphylococcus**, participa en la recepción de fagocitos y facilita la unión de los gérmenes a las membranas de las células del huésped y a las células endoteliales.

La capacidad de estas bacterias de producir procesos mórbidos en los hombres y los animales depende de una combinación de factores; del estado inmunológico del huésped, la gran capacidad para multiplicarse y diseminarse en los tejidos y la producción de una diversidad de sustancias extracelulares.

Entre las sustancias extracelulares se encuentran: exotoxinas, leucocidinas, enterotoxinas, coagulasa, hialorudonidasa y estafilocinasa.

Las α , β , γ , δ **hemolisinas** son exotoxinas de las cuales la mejor estudiada es la α hemolisina. Todas las hemolisinas no son sintetizadas por todas las cepas de ***Staphylococcus aureus*** lo que hace suponer que la presencia de alguna en particular está fuertemente asociada a la aparición de un síndrome clínico en particular. Estas toxinas producen hemólisis de los eritrocitos, de las plaquetas y lesión de las membranas ricas en esfingomielina, también se menciona que ejerce una acción importante sobre el músculo liso de las paredes de los vasos con lo que contribuye a la necrosis^{4,6}.

Las **leucocidinas** producen daño en las membranas de los leucocitos en las que probablemente induce la necrosis de las mismas. La **coagulasa** se une a la protrombina del huésped, con la formación de una estafilotrombina que activa a la trombina y de esta manera se forma fibrina a partir del fibrinógeno. Una pequeña cantidad de coagulasa permanece unida a la célula y actúa como factor aglutinante, que probablemente contribuye a la adhesión de las bacterias a la piel desvitalizada y a las superficies extrañas.

Algunas cepas de ***Staphylococcus aureus***, del fago grupo II, elaboran además unas toxinas epidermolíticas, exfoliativas, que participan en el síndrome de piel escaldada^{11,12,13}.

En cuanto a las formas de colonización en el hombre, los ECN colonizan de forma universal la piel humana en cambio, los ***Staphylococcus aureus*** producen colonizaciones intermitentes en el 10% al 40% de los niños y en el 30% de los adultos¹⁴.

El sitio más común de colonización de los ***Staphylococcus aureus*** es la cavidad nasal, otros sitios menos frecuentes son la piel, el cabello, las uñas, las axilas, el perineo o la vagina (hasta en el 10% de las mujeres que menstrúan)^{6,7}.

La procedencia y tipo de espécimen que se envía al laboratorio es de suma importancia ya que cuando se aíslan ***Staphylococcus aureus*** siempre será considerado patológico en cambio la presencia de ECN por lo general es indicativo de contaminación, excepto cuando son aislados de sitios estériles en los que se tiene la seguridad de haber tomado una muestra con todas las medidas de asepsia⁸.

El principal medio de contagio lo constituye el contacto de persona a persona a través de las manos contaminadas. Una vez rotas las barreras de la piel o las mucosas los ***Staphylococcus*** se diseminan en los tejidos y se multiplican rápidamente produciendo generalmente furúnculos o abscesos localizados en los que se produce necrosis y localización de la lesión gracias a las hemolisinas y coagulasa, entre otras.

Sin embargo, es posible que los gérmenes alcancen el torrente circulatorio o el linfático por ruptura de la pared de fibrina que limita los abscesos o por accidente y producir cuadros severos que comprometen la vida de los huéspedes. Las manifestaciones clínicas de la bacteriemia es similar a la de otras y la formación de abscesos en los órganos del cuerpo se acompaña de manifestaciones de disfunción en los órganos afectados.

El principal mecanismo de defensa del huésped, por lo tanto, lo constituye la integridad de las barreras formadas por la piel y las mucosas. En aquellos individuos que presentan trastornos en la piel o procesos crónicos en la misma son más susceptibles a contraer infecciones por ***Staphylococcus***. Un elemento que contribuye de forma importante en la defensa del huésped es la actividad de los neutrófilos; por el contrario, otros elementos de la respuesta inflamatoria desempeñan un rol menos protagónico.

De esta manera, se considera que aquellos huéspedes que poseen cuadros de neutropenia así como los que padecen de trastornos funcionales de los neutrófilos pueden estar asociados a infecciones recurrentes por ***Staphylococcus aureus***.

Probablemente por el hecho de que los ***Staphylococcus*** son agentes patógenos hospitalarios, los pacientes con enfermedades crónicas también sean frecuentemente afectados por infecciones por ***Staphylococcus aureus***^{5,6,8}.

Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus* sp.

La resistencia bacteriana se define como “una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico”¹⁵.

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son siempre categorizados basados en interpretaciones fenotípicas de laboratorio: el microorganismo es reportado como susceptible o resistente a un antibiótico determinado. El clínico generalmente toma decisiones terapéuticas con base en esta información sin tener en cuenta que estos datos son el fiel reflejo de procesos moleculares. Courvalin, introdujo el concepto de lectura interpretativa de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. La lógica de este enfoque se basa en:

- i) caracterizar el fenotipo de resistencia con la evaluación apropiada de antibióticos pertenecientes a una misma clase
- ii) deducción del mecanismo bioquímico y molecular de acuerdo al fenotipo observado
- iii) escogencia del antimicrobiano apropiado con base en estos parámetros¹⁶.

Desde la introducción de los antibióticos la mortalidad por infecciones causadas por ***Staphylococcus aureus*** disminuyó drásticamente, pero muy pronto se puso de manifiesto la resistencia de algunas cepas a la penicilina. La resistencia adquirida ocurrió de forma paralela para los ***Staphylococcus aureus*** como para los ECN¹⁷. El mecanismo de resistencia es la elaboración de una enzima llamada beta lactamasa que es capaz de romper el anillo beta lactámico a través de un proceso de hidrólisis;

esta enzima conocida inicialmente como penicilinasa es codificada por un transposón transportado por un plásmido.

Contrario a lo esperado, la introducción de penicilinas semisintéticas no fue la solución al problema de la resistencia bacteriana; pues en corto tiempo los gérmenes también mostraron resistencia a estos fármacos, fenómeno conocido como resistencia intrínseca a la meticilina ^{6, 18, 19}

Las cepas de ***Staphylococcus aureus*** resistentes a meticilina (MRSA) deben considerarse resistentes a todos los betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapemen y combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas)²⁰.

Staphylococcus aureus resistentes a meticilina, conocidos en inglés como MRSA, han desarrollado la resistencia de tres formas que bien pueden relacionarse entre sí: producción de beta lactamasas, por fenómenos de tolerancia, resistencia por proteínas fijadoras de penicilina (PBP) modificadas o supernumerarias. ^{5,8.}

Las bacterias adquieren los genes de resistencia a antibióticos fundamentalmente por mecanismos de movilización genética, por medio de plásmidos, transposones e integrones. Un integrón se puede considerar como un elemento especializado en la incorporación de genes y su expresión. La mayoría de los genes descritos hasta el momento en los integrones codifican para proteínas implicadas en la resistencia a antibióticos.

Identificación y epidemiología molecular de microorganismos

La detección por métodos fenotípicos de los ***Staphylococcus aureus*** meticilina resistentes (MRSA) puede ser en algunos casos problemática debido a la expresión irregular del gen ***mec A***, que codifica para la PBP2a, influenciado además por factores externos. La detección del gen ***mec A*** por PCR, es considerado como ***gold standard*** en la detección de dichos microorganismos. La presencia en el genoma

bacteriano de secuencias de nucleótidos repetidas (short sequences repeats) se ha mostrado de utilidad en el genotipado de microorganismos patógenos²¹ .

La proteína PBP2a es una proteína de 78 kilodalton con baja afinidad por la meticilina y el resto de los beta lactámicos. El determinante genético de esta proteína es de naturaleza cromosómica, el gen ***mec A***, este gen contiene loci distintos, el ***mec A***, que codificaría la PBP2a y el ***mec R*** o gen regulador. Con lo que las cepas de MRSA con resistencia intrínseca poseen los marcadores gen ***mec A*** y ***PBP2a***.

También se han descrito otras modalidades de resistencia diferentes a las anteriores, la cual es conocida como *borderline*, en la cual existe una hiperproducción de beta lactamasas y resistencia por alteración de las proteínas ligadoras de penicilinas PBPs 1, 3 y 4. Con lo que se encuentran otros genes implicados estos son el ***gen bla*** (para beta lactamasa) y el ***gen fem*** (factor esencial de resistencia a meticilina)^{5,8}.

Staphylococcus aureus es la principal especie patógena de su género, causa común de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario. Las cepas SARM se identificaron de forma casi inmediata tras la introducción de la meticilina en terapéutica (Jevons, 1961; Knox 1961). Los primeros brotes de infección nosocomial se escribieron en hospitales europeos al inicio de los años sesenta. Desde entonces, su prevalencia ha ido creciendo en la mayoría de áreas geográficas. En España encuestas sobre aislados MRSA reflejan como, desde un 1,5% en 1986, se pasa a un 18-23% en 1996 (Grupo de Trabajo EPINE, 1995; Cercenado *et al.*,1997), convirtiendo determinadas áreas hospitalarias, sobre todo aquéllas consideradas de alto riesgo, como las Unidades de Cuidados Intensivos, en zonas endémicas para este tipo de infección. Algunos estudios realizados en determinados períodos elevan estas cifras hasta un 40%.

La variabilidad de ***S. aureus*** , la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han

hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia, ocasionalmente importantes. Aunque el término resistencia a meticilina incluye resistencia a derivados β -lactámicos, las cepas MRSA presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos. A través de diversos mecanismos, estos aislados presentan resistencia al cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos e incluso, quinolonas, describiéndose cada vez con mayor frecuencia brotes MRSA sensibles sólo a los glucopéptidos.⁵

Estudios realizados en hospitales de Estados Unidos reportan que los ***Staphylococcus sp.*** han adquirido resistencia también a otros fármacos muy útiles para su manejo como las cefalosporinas y quinolonas ²².

La introducción de la vancomicina, un glucopéptido, vino a solventar el problema de la resistencia de los ***Staphylococcus*** a la meticilina, permitiendo proporcionar una terapéutica eficaz a los pacientes que así lo requerían. En la Escuela de Medicina de Harvard a mediados de la década de los ochenta, se aisló una cepa de ***Enterococos*** resistentes a la vancomicina; lo que como era de esperar vino a inquietar a la comunidad científica ya que existe la posibilidad de transmisión de resistencia al ***Staphylococcus*** in vivo, pues en condiciones de laboratorio ésto ya había sido posible^{23,24}.

El fracaso terapéutico en un lactante en Japón y la notificación del aislamiento de tres cepas con resistencia intermedia a la vancomicina en Estados Unidos hacen sospechar la posibilidad del desarrollo de resistencia del ***Staphylococcus aureus*** a estos antibióticos pronto llegue a ser universal.

Métodos de determinación de la resistencia antimicrobiana

Puede determinarse la resistencia antimicrobiana de las bacterias mediante los siguientes métodos:

a. Difusión en disco

- b. E- Test
- c. Microdilución
- d. Phene-plate
- e. PCR

a. Difusión en disco:

Se coloca un disco impregnado de antibiótico en agar en el que previamente se ha inoculado la bacteria objeto de la prueba, el disco capta humedad y el antibiótico difunde radialmente hacia afuera a través del agar, produciendo un gradiente de concentración de antibiótico. El antibiótico está presente a una concentración alta cerca del disco y afecta incluso a gérmenes igualmente sensibles (los microorganismos resistentes crecen hasta el disco). A medida que aumenta la distancia del disco disminuye la concentración de antibiótico y solo los patógenos más sensibles resultan dañados. Si el agente inhibe el crecimiento bacteriano, entorno al disco se forma un anillo claro. Cuanto más ancha es la zona que rodea al disco más sensible es el patógeno. El diámetro del anillo es también función de la concentración inicial del antibiótico, de su solubilidad y de su tasa de difusión a través del agar. Por lo tanto, no se puede emplear el diámetro de la zona de inhibición para comparar directamente la eficacia de dos antibióticos diferentes.

En la actualidad, la prueba de difusión en agar más empleada es el método de Kirby-Bauer, que fué desarrollado a principios de la década de 1960 por William Kirby , A. W. Bauer y sus colaboradores en la *Washington Medical School*, siendo recomendado por la *Food and drug administration (FDA)* y el *National Commitee for Clinical Laboratory Standar (NCCLS)*.

b. E-Test: (AB Biodisk, Solna, Sweden)

Utiliza el principio de estabilización sobre la densidad de gradiente antimicrobiano sobre platos de agar para determinar las medias de susceptibilidad. El método del E-Test es utilizado sobre tiras plásticas que son impregnadas en la superficie con un gradiente de concentración antimicrobianos y son marcadas con el índice de concentración del antibiótico a escala, las tiras preparadas son colocadas sobre la superficie del plato de agar, que previo fueron inoculadas con la bacteria a analizar y que tengan contacto de la tira plástica con la bacteria .

Después de incubar por 24 horas, los resultados del test son analizados sobre el plato procediendo a tomar las medidas del gradiente antimicrobial que se forma alrededor del las tiras del E-Test, lo que indica una inhibición elíptica observada en el medio de cultivo.

La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determina cuando hay crecimiento de los interceptos elípticos. El E-Test comparte con el test de disco de difusión la flexibilidad intrínseca de la selección de la droga analizada, porque las tiras seleccionadas son aplicadas a la superficie del plato analizado, además el E-Test puede ser usado especialmente para el estudio de organismos como *enterobacterias* y microorganismos fastidiosos como *H. influenzae* , *S. pneumonia* y bacterias anaerobias ²⁵.

c. Microdilución (MIC)

Una prueba de dilución puede conseguirse por la estimación cuantitativa de la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico realizando una prueba de CIM (concentración mínima inhibitoria) es decir, una prueba que permite encontrar la concentración más baja de los antibióticos que inhibirá in vitro el crecimiento de bacterias aisladas.

Se preparan diluciones seriadas del antibiótico de prueba en el caldo o en el agar y se inocula con una suspensión del microorganismo a estudiar. Tras una incubación de una noche se registra la MIC como la dilución más alta a la cual no hay crecimiento macroscópico. Estas pruebas pueden realizarse en una microplaca y forman la base de los sistemas de prueba de sensibilidad automatizadas. Un método alternativo es la prueba E-Test.

Las pruebas del MIC, son claramente más costosas que las pruebas de difusión en agar, en cuanto al tiempo y material se refiere. No son necesarias para todos los aislados de todos los pacientes, aunque suelen proporcionar información útil para el tratamiento de infecciones difíciles como la endocarditis bacteriana y pacientes que no responden a un tratamiento en apariencia adecuado.

Una ventaja es la determinación de la concentración mínima inhibitoria, que es la concentración más baja de un antibiótico para inhibir o destruir el crecimiento de la bacteria en análisis. Las pruebas se subcultivan en un medio fresco sin el fármaco y se incuban durante 18 a 24 horas más para comprobar la efectividad²⁵.

d. Detección por PCR del gen de resistencia antimicrobiana

El principio fundamental del PCR se basa en la amplificación de fragmentos específicos de ADN mediante la multiplicación experimental de ciclos sucesivos hasta obtener suficiente producto para ser visualizado. De esta manera, una molécula simple de ADN puede ser amplificada más de 1000 millones de veces, en 30 ciclos de reacción.

e. Phene –Plate system o Fingerprinter (las huellas de la bacteria)

El principio fundamental del Phene-Plate es determinar las características metabólicas de las bacterias mediante reacciones bioquímicas que utilizan carbohidratos como fuente de energía para poder realizar la fermentación de éstos y relacionar genéticamente los carbohidratos fermentables con la bacteria analizada.

Las ventajas del método es que tiene alta discriminación con uso simple, automático y rápido, bajos costos de materiales y no requiere equipos especiales. Es útil para estudios ecológicos de la microflora humana, animal, estudios medio-ambientales, infecciones hospitalarias y otros. Tiene la facultad de medir la capacidad fermentativa de las bacterias aerobias, no así a los anaerobios que son extremadamente no fermentativos, así como los extremadamente sensitivos a las concentraciones de oxígeno. El método fue desarrollado por *Möllby* y colaboradores, durante la década de los noventa, en el Instituto Karolinska (Suecia).

Portadores sanos

El personal hospitalario, así como personas que padecen de afecciones crónicas y los que portan dispositivos médicos, poseen una tasa mayor de colonización con ***Staphylococcus aureus*** usualmente multirresistentes ¹⁰.

El principal reservorio de ***Staphylococcus aureus*** es el ser humano. ***Staphylococcus aureus*** es parte de la flora normal localizándose principalmente en la piel y en menor frecuencia en las mucosas, en portadores sanos, así como en los pacientes infectados. Otros sitios de colonización suelen ser también úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de portadores de sonda.

Los ***Staphylococcus aureus*** poseen una gran capacidad para sobrevivir en un ambiente adverso y por la acción de sus determinantes de patogenicidad acaba produciendo infección.

Tanto los ***Staphylococcus*** sensibles a metilicina como los resistentes a la misma se introducen en el medio hospitalario a través de pacientes, visitantes o trabajadores sanitarios. El reservorio fundamental lo constituyen los pacientes ingresados que están infectados o colonizados, extendiéndose a otros pacientes por medio de las manos del personal que les atiende. A medida que progresa un brote epidémico, aumenta el número de portadores nasales de MRSA que constituyen, a

menudo, la propia fuente de infección. También debe mencionarse que la transmisión a través del entorno inanimado se señala de especial interés en las Unidades de Cuidados Intensivos.

Las infecciones causadas por MRSA ocurridas en la comunidad son cada vez más reportadas, pero estos casos están siempre asociados al contacto con una persona que estuvo previamente hospitalizada o al contacto con trabajadores de centros hospitalarios. La importancia de este hecho radica en que los ***Staphylococcus*** que son transmitidos a las personas son cepas resistentes no sólo a la metilina sino también a múltiples fármacos, siendo el hombre un “vector” de transmisión de gérmenes de alta patogenicidad.

En relación al tiempo promedio de colonización de los portadores éste es diferente según el medio. En un estudio realizado en mayo del 2001 en Francia se encontró un tiempo promedio de colonización de 8.5 meses en pacientes que ya habían sido dados de alta del hospital y que reingresaron al centro por diversas causas. Se ha visto además que, a medida que aumenta la exposición clínica la resistencia de las cepas de ***Staphylococcus*** se amplía²⁶.

Las medidas más eficaces para el control de infecciones por ***Staphylococcus aureus*** en general y MRSA en particular, son las barreras que limitan su extensión. El lavado de manos, uso de guantes y batas son recomendados al entrar en contacto con pacientes infectados y en casos de brotes con pacientes por Neumonía por MRSA es necesario utilizar mascarilla. Cuando se labora en Unidades de Cuidados Intensivos resulta útil la utilización de mascarilla como un método de rutina ya que no sólo disminuye la colonización a nivel de garganta y nariz, sino que también a nivel de la piel en las manos²⁷.

Es de suma importancia realizar cultivos microbiológicos de vigilancia para el control de portadores nasales ya que de esta manera es posible conocer el patrón de resistencia de las cepas encontradas así como también, detectar el momento de aparición de un brote por MRSA.

En estos casos el uso de mupirocina tres veces al día durante cinco días está indicado para la erradicación nasal de portadores sanos ⁵.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar el perfil de resistencia antimicrobiana en cepas de ***Staphylococcus aureus*** aisladas de pacientes hospitalizados en el departamento de Pediatría.
- 2.- Determinar la prevalencia de portadores sanos de ***Staphylococcus*** resistentes a meticilina entre el personal médico y paramédico del departamento de Pediatría.
- 3.- Confirmar la presencia del gen ***mec A*** por PCR, en las cepas resistentes a meticilina.

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio

El estudio se realizó en el Departamento de Pediatría del Hospital Escuela “Oscar Danilo Rosales Argüello” de la Ciudad de León. El que cuenta con 414 camas y de éstas 91 pertenecen al Departamento de Pediatría. Además cuenta con especialistas en las diferentes ramas de la medicina y médicos en formación.

Período de estudio

El estudio se realizó desde agosto del 2000 a noviembre del 2002.

Tipo de estudio

Descriptivo de serie de casos.

Población de estudio

Cepas de *Staphylococcus sp* que fueron aisladas de muestras biológicas de niños hospitalizados en las diferentes salas del departamento de Pediatría del HEODRA y cepas aisladas de muestras de la mucosa nasal del personal que labora en los diferentes servicios del departamento de Pediatría.

Criterios de inclusión

Todas las cepas de *Staphylococcus sp.* que fueron aisladas de las muestras biológicas obtenidas en el departamento de Pediatría.

Fuente

Primarias y secundarias.

Método de recolección de datos

Los datos fueron obtenidos a partir de los expedientes clínicos de los pacientes a quienes se les aisló *Staphylococcus sp.* Los datos de laboratorio se obtuvieron del libro de registro del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAN León.

La información relacionada con el personal de salud del departamento de Pediatría se obtuvo directamente a través de una ficha y con el consentimiento informado de cada uno de los participantes.

Colección y transporte de muestras

Las muestras fueron obtenidas con hisopo estéril y depositadas en un medio de transporte Stuart y trasladadas el mismo día de su colección al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAN-León.

Procesamiento de muestras

Todas las muestras biológicas fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAN León, utilizando métodos de rutina.

Las cepas aisladas fueron identificadas morfológicamente a través de la Tinción de Gram y químicamente utilizando el test de coagulasa y DNA asa.

Las cepas identificadas como *Staphylococcus aureus*, fueron utilizadas para análisis de sensibilidad antimicrobiana mediante la prueba de difusión modificada por Kirby-Bauer, en la que se utilizaron discos de los siguientes antibióticos penicilina, meticilina, trimetoprim sulfam, gentamicina y vancomicina. Se determinaron las CMI de vancomicina y meticilina utilizando E-Test.

Se confirmó la presencia del *mec A* en las cepas meticilín resistentes por medio de la técnica molecular de PCR.

Plan de análisis

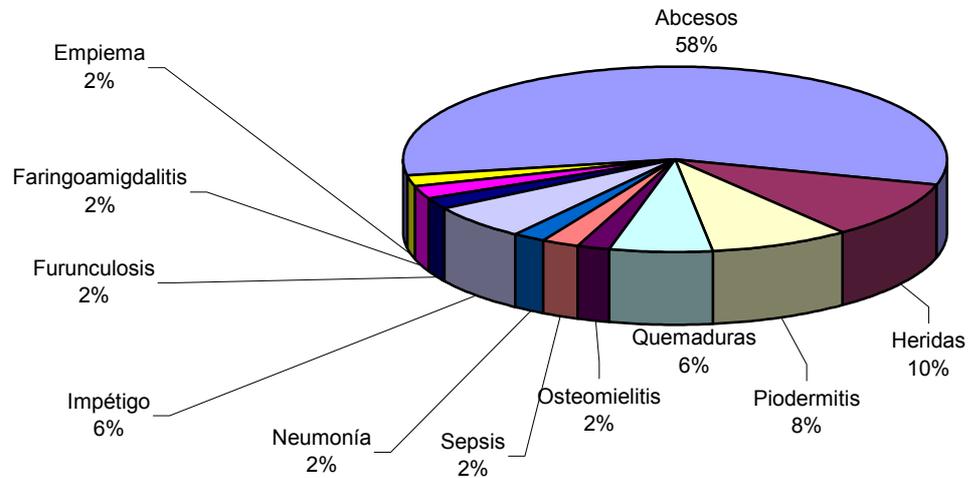
Los datos alimentaron una base de datos de Access 2000 donde se tabularon y se aplicaron técnicas de estadística descriptiva. Los gráficos se realizaron con Microsoft Graph 8.0. Los resultados se editaron en Microsoft Word 2000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perfil de Resistencia Antimicrobiana en Cepas de *Staphylococcus* aisladas en pacientes del departamento de Pediatría

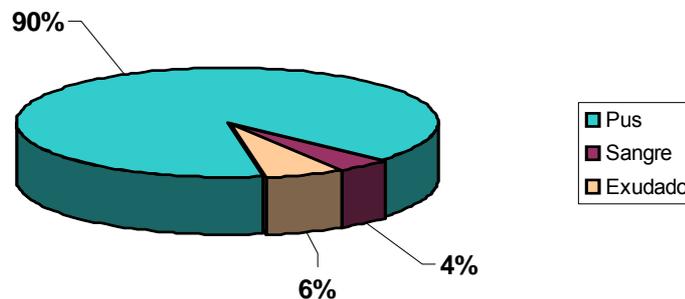
En el período comprendido de agosto del 2000 a noviembre del 2002 fueron analizadas 116 muestras, hubo crecimiento de *Staphylococcus aureus* en 49 de éstas (42.2%). Las que se obtuvieron de pacientes ingresados en los Servicios de Cuidados Intermedios Neonatales, Infectología, Medicina Pediátrica, Cirugía y Lactantes B. Todas las muestras provenían de pacientes ingresados por procesos infecciosos de diferente naturaleza.

Distribución de diagnósticos clínicos de los pacientes en quienes se aisló *Staphylococcus aureus*



El diagnóstico prevalente entre los niños con crecimiento de *Staphylococcus aureus* fue abscesos en diversas localizaciones. El empiema, faringoamigdalitis, furunculosis, impétigo, neumonía, sepsis y osteomielitis se presentaron en porcentajes similares. Por lo que el espécimen biológico más usado en las muestras fue pus en el 88%, secreciones (seromas, etc.) y sangre en el 5%.

Distribución de muestra según especímenes biológicos



Meticilina

Se comienza el análisis con este fármaco ya que la resistencia a él es el punto de partida de la clasificación actual de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Se encontraron valores de diámetro del halo que oscilan entre 1 mm y 19 mm, con promedio de 15.9 mm y una Desviación Estándar de 3.8 mm. (observamos que los todos los valores por encima de la media estaban dentro de la DS). Partiendo de que el valor de referencia para interpretar la resistencia es un halo de 17 mm, podemos observar que el 37.2% fueron resistentes, el 20.9% mostraron sensibilidad intermedia y el 41.8% fueron sensibles. Lo que alarma, ya que la meticilina es un marcador de resistencia a otros antibióticos beta lactámicos ²⁸.

La concentración mínima inhibitoria (MIC) de todas las cepas resistentes a meticilina, fue determinada utilizando E-Test. La tabla No. 1 muestra los valores encontrados. Por su importancia se valoró también la resistencia a vancomicina. Los puntos de corte utilizados fueron los dados por AB BIODISK (manual octubre 16-2002) y corresponden: meticilina sensible $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ y resistente $\geq 4 \mu\text{g/ml}$. Vancomicina sensible $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, intermedio 8-16 $\mu\text{g/ml}$ y resistente $\geq 32 \mu\text{g/ml}$.

Perfil de resistencia antimicrobiana de *S. aureus* según E-test

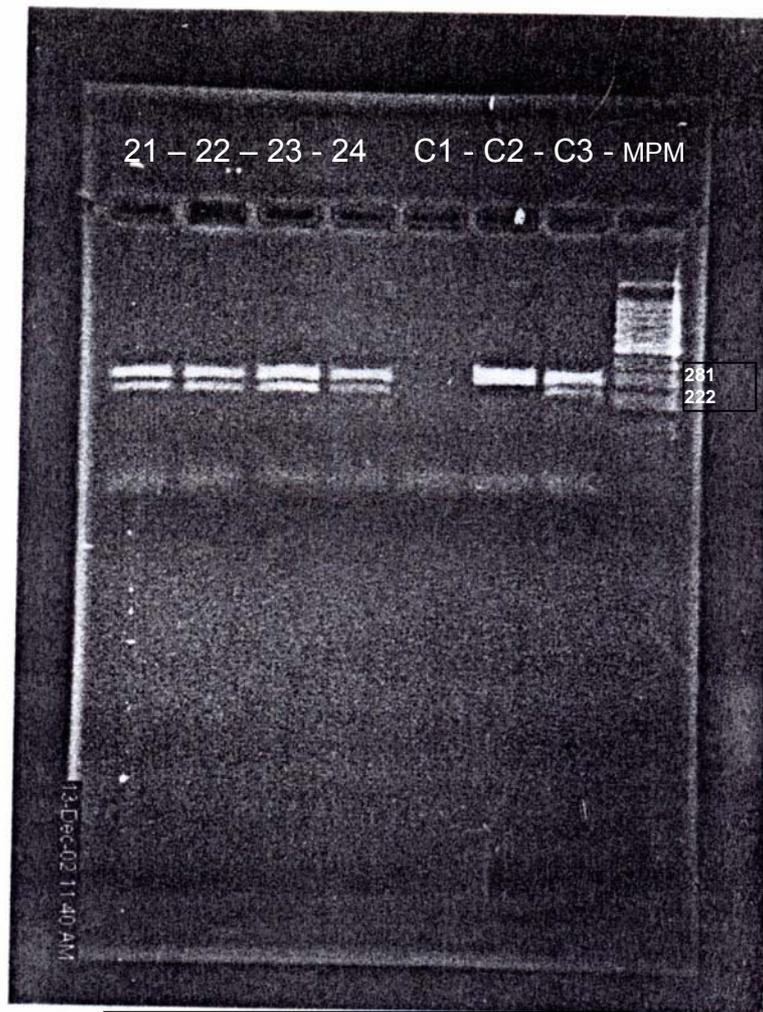
Antimicrobianos	Rango	CMI $\mu\text{g/ml}$	
		CMI ₅₀	CMI ₉₀
Meticilina	0.75-8	4	6
Vancomicina	1-12	6	8

Puede observarse que la CMI₅₀ de meticilina para las cepas de *S. aureus* estudiadas fue de 4 $\mu\text{g/ml}$ mostrando con ello la resistencia de estas cepas frente a este fármaco. En relación a la vancomicina es importante señalar que la CMI₉₀ fue de 8 $\mu\text{g/ml}$ lo que significa que un 10% de cepas mostraron valores de resistencia intermedia, situación que ha sido reportada en diversos países, como Japón y otros de Europa^{20, 23, 24}.

Todas las cepas resistentes a meticilina fueron analizadas utilizando PCR para la determinación de la presencia del gen *mec A* que codifica dicha resistencia confirmándose en 90.9% de las cepas previamente definidas como resistentes por dos métodos: difusión de disco y E-Test, lo que podría explicarse de diferentes maneras: una de ellas es la no expresión del gen en la generación de cepas estudiadas; otra es la posibilidad de que las concentraciones mínimas inhibitorias obtenidas por E-Test hayan estado cerca de los límites para considerarlo sensible o resistentes, como lo que pudo suceder con la medida de los halos al realizar el método de difusión de disco. De todas formas la prueba de oro es el PCR y las diferencias entre métodos no fue significativa, por lo que podemos concluir que el porcentaje de cepas resistentes a meticilina confirmado por los 3 métodos es un

poco mayor del 35%, resultados comparables con lo reportado por Sakaulas G. y col.²⁹ y un poco menor de lo encontrado en el hospital de Estelí en Nicaragua, en donde se reporta aproximadamente un 50%, pero debe tenerse en cuenta que esos resultados incluyen cepas obtenidas de pacientes en todos los grupos étnicos³⁰.

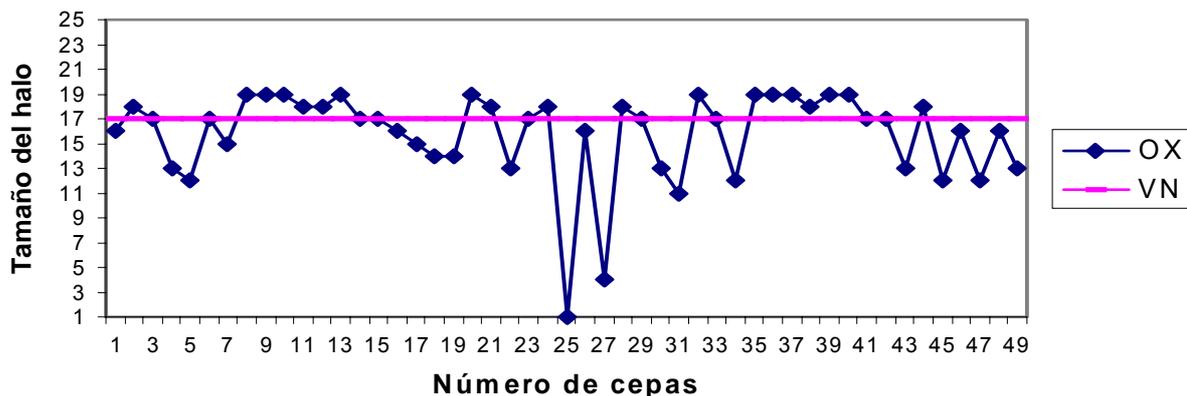
La foto del gel que se muestra a continuación, señala el resultado del PCR para ***mec A*** y ***nuc*** en las cepas de la 21 a la 24 de ***S. aureus*** y sus respectivas cepas de control. En ella es posible apreciar que a nivel de los pares de base 222 se encuentra localizado el gen ***mec A***, a nivel de los pares de base 281 se aprecia el gen ***nuc***. El control 1 (C1) lo constituyó una cepa de ***E. epidermidis***, la cepa ATCC 1222 ; el control 2 (C2) utilizado fue una cepa de ***E. aureus*** meticilín sensible cepa ATCC 29213 y como control 3 (C3) se utilizó una cepa de ***E. aureus*** resistente a meticilina, la cepa CCUG 31966. Se puede observar que el C1 muestra la ausencia de los genes, el C2 muestra solamente la presencia del gen ***nuc*** y el C3 exhibe tanto al ***mec A*** como el ***nuc***.



PCR para mecA y nuc de *S. Aureus* meticilino resistente.

El perfil de resistencia encontrada en este estudio mantiene la tendencia de múltiples investigaciones realizadas a lo largo del mundo como Estados Unidos, Francia, Italia³¹ y Cuba²⁰. En Paraguay entre 1994–1996 se observó 25% de cepas meticilín resistentes de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes hospitalizados³².

Perfil de resistencia de *S. aureus* a Meticilina



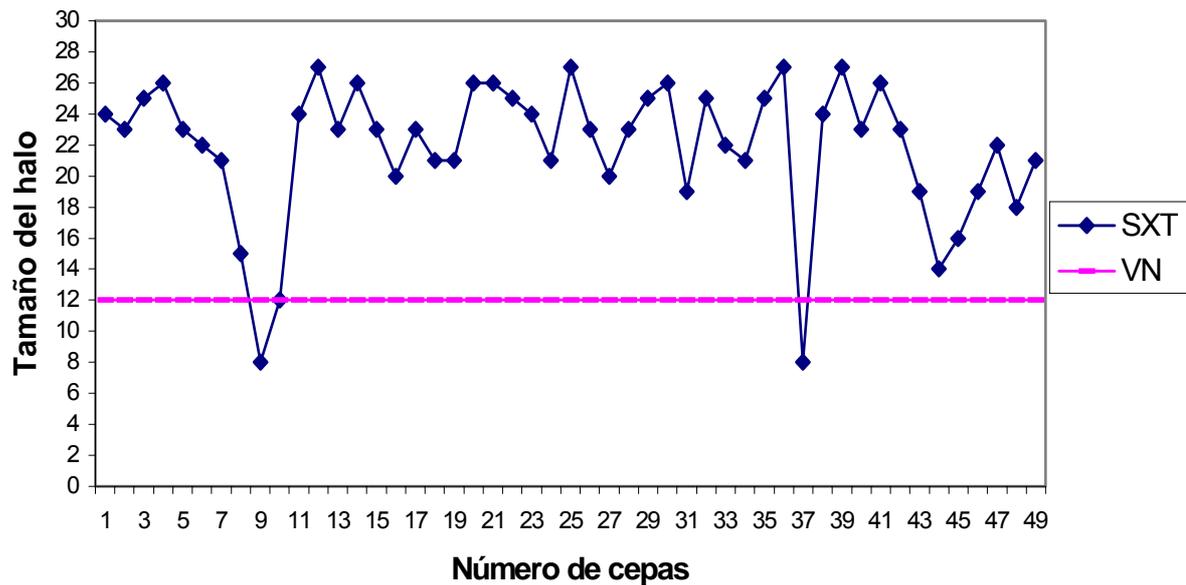
Se encontró el uso previo de antibiótico beta lactámico en el 23% de los pacientes en quienes se aislaron cepas resistentes a metilina; en el 33.3% el esquema fue dicloxacilina asociado a gentamicina; igual porcentaje se encontró en el uso de penicilina sola y penicilina asociado a ceftriaxone y amikacina. Esto confirma que el uso previo de antibióticos genera la emergencia de resistencia, hipótesis ampliamente demostrada por otros investigadores. Hecho reforzado por el reporte de no uso de antibióticos previo a la toma de la muestra en ninguna de las cepas sensibles. Sin embargo hay referencias que difieren de este conocimiento como lo planteado por Parker y Hewitt^{31, 33}, quienes refieren que la exposición previa a antibióticos no era esencial para que el *Staphylococcus* se tornase Meticilino-resistente, ya que un paciente puede ser colonizado por cepas resistentes desde su inicio.

Trimetroprím Sulfametoxazol:

El Trimetroprím sulfametoxazol en el tratamiento de infecciones por *Staphylococcus aureus* se describe solamente efectivo en $MIC_{90} < 30\%$ y se menciona como un fármaco “con algún efecto” en infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina. Catalogado como seguro, eficaz y no establecido en menores de 2 meses en patologías no asociadas a *Staphylococcus aureus*. En

este estudio se encontró solamente una resistencia de 4.6 % de las cepas aisladas, 2.3% con sensibilidad intermedia y sensibilidad del 93%. Con un halo mínimo de 8 mm, máximo de 27 mm y promedio de 22.4 mm, con una Desviación estándar de 4.4 mm. El valor de referencia es de 12 mm. Lo que obliga a tomarlo en cuenta como alternativa de tratamiento en infecciones producidas por cepas MRSA³⁴.

Perfil de resistencia de *S. aureus* a Trimetoprim sulfam



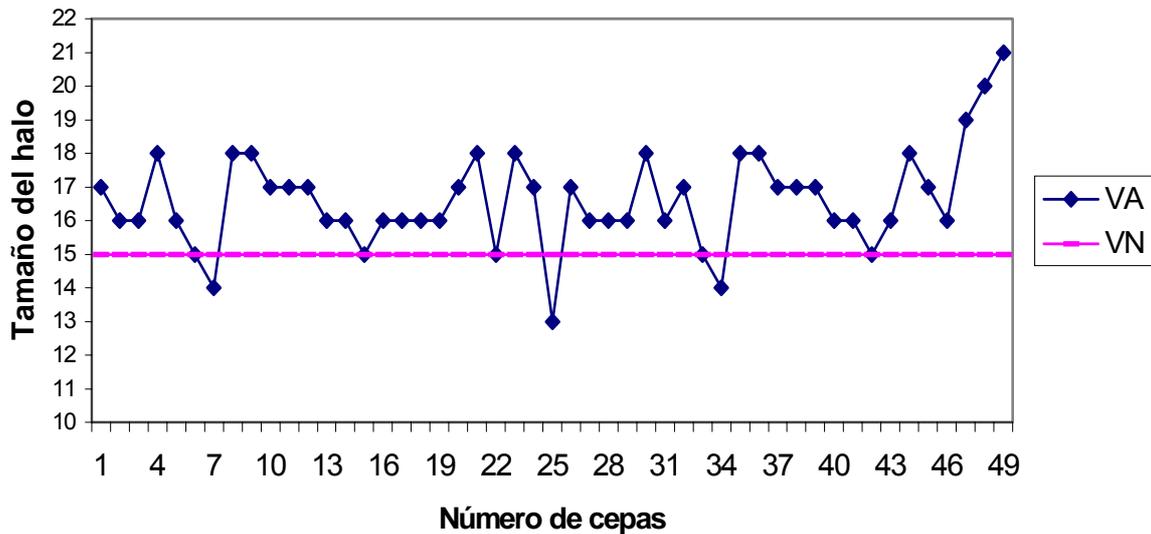
Vancomicina:

Se encontró 3 cepas resistentes a vancomicina, utilizando el método de difusión en disco, al determinarse CMI con E-Test según lo recomienda el NCCLS, éstas no fueron confirmadas como resistentes pero sí con valores intermedios de 12 µg/ml. Los valores encontrados en ambos métodos demuestran que aproximadamente el 50% de las cepas están en valores superiores a los aceptados como sensibles.

Hasta antes del año 2002 solamente se habían reportado cepas con resistencia intermedia en el Japón, hoy conocemos de la presencia de cepas resistentes a

vancomicina en los Estados Unidos. Esto es de suma importancia y nos compromete a mantener una estrecha vigilancia de la emergencia de cepas resistentes a vancomicina que resulta ser el tratamiento de elección cuando la cepa es resistente a meticilina³². A pesar de esto hay quienes sugieren que de acuerdo a las recomendaciones por expertos y a sus resultados, el tratamiento empírico de bacteriemia por cocos Gram positivos, el tratamiento empírico debe incluir vancomicina, pero señalan que es imperativo fortalecer los programas de control de infecciones y de uso de antibióticos³⁵.

Perfil de resistencia de *S. aureus* a Vancomicina



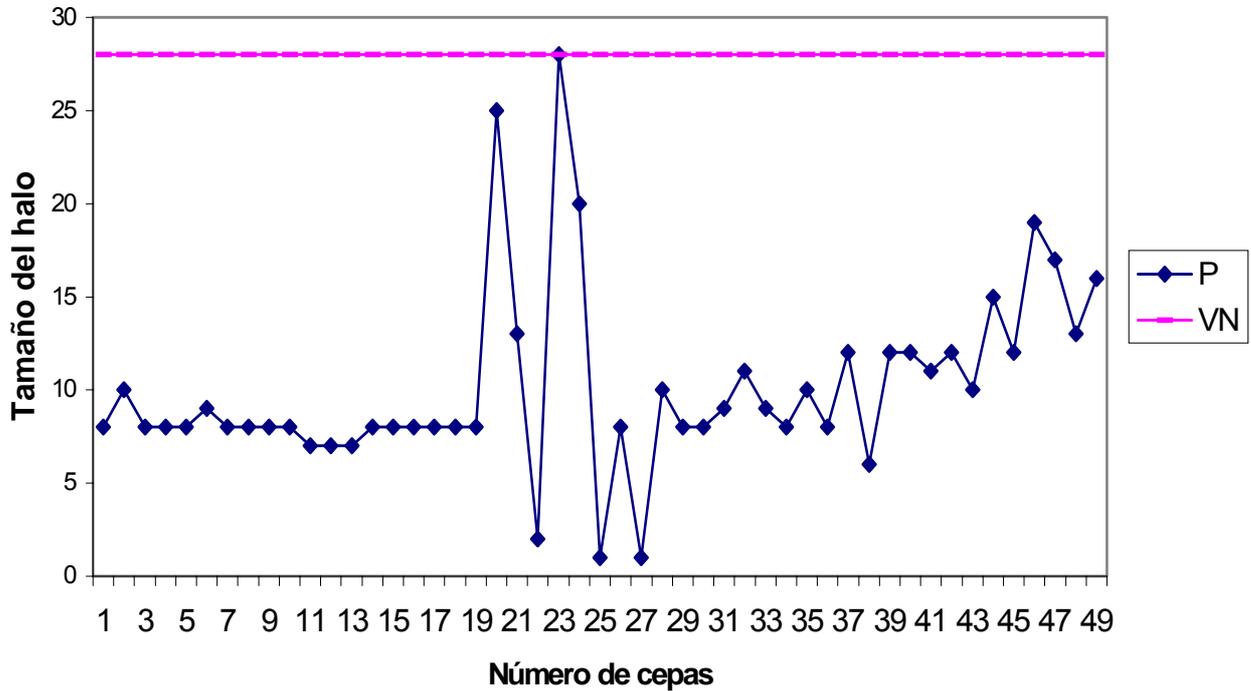
Penicilina

Las cepas presentaron un halo mínimo de 1 mm, máximo de 28, promedio de 9.44 mm, una Desviación Estándar de 4.9 mm con un valor de referencia de 28 mm.

El 98% de las cepas estudiadas mostraron resistencia frente a la penicilina y 2% de las mismas con sensibilidad intermedia. Ningún cepa fue sensible para este fármaco. Lo que demuestra que existe un índice máximo de resistencia frente a la penicilina,

reflejo probablemente del uso irracional de ésta y de la situación a nivel mundial de este fármaco ²⁰.

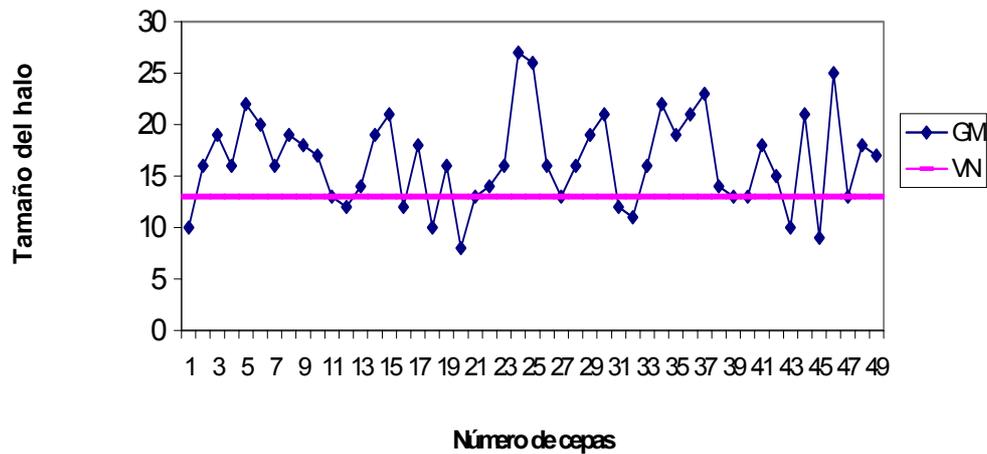
Perfil de resistencia de *S. aureus* a Penicilina



Gentamicina

Tomando como valor de referencia el tamaño del halo para gentamicina de 13 mm encontramos que el 69.3% de las cepas estudiadas mostraron halos superiores a este valor, lo que se interpreta como sensibilidad al fármaco y el 30.6% de las cepas con halo igual o inferior a 13mm las que se consideran resistentes.

Perfil de resistencia de
S aureus a Gentamicina



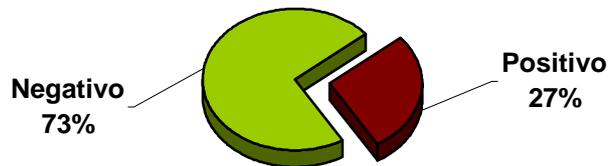
Se incluyó a la gentamicina en el estudio por ser un fármaco de amplio uso clínico, el cual a pesar de no ser un fármaco de primera elección en el tratamiento de infecciones por *S. aureus*, los beneficios de su uso asociado con otros fármacos anti – beta lactamasas son gracias a su sinergismo³⁴. Hormaza señala que la bacteria es más sensitiva a gentamicina que a meticilina³⁶.

Prevalencia de Portadores Sanos.

En el período de marzo 2001 a febrero de 2002 se recolectaron 51 muestras de trabajadores del Departamento de Pediatría. Las muestras fueron obtenidas de las fosas nasales. Los médicos representaron el 15% y las enfermeras el 85% de la población muestreada.

Se encontró en el 27.4% de cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* (portadores sanos), muy similar a lo encontrado en Arabia Saudita en el personal hospitalario del Departamento de Microbiología Clínica y Parasitología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Khalid³⁷.

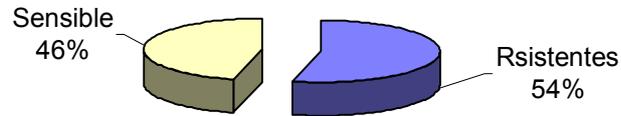
Portadores nasales de *S. aureus* en el personal de salud



Las cepas aisladas mostraron el siguiente comportamiento frente a meticilina: un halo mínimo de 4 mm, un halo máximo de 19, promedio de 15.2 mm, una Desviación Estándar de 4.3 mm con valor de referencia para este fármaco de 17 mm.

En donde el 46% de las cepas fueron sensibles y 54% resistentes. La resistencia encontrada en este estudio se observa muy por encima de lo notado por Alghaithy AA y col. en Arabia Saudita²⁷, quienes reportan porcentajes de 18.3% de ***Staphylococcus aureus*** resistentes a meticilina en personal hospitalario. Esto debe provocar mayor preocupación en nuestra región, donde el uso de antibióticos no tiene restricción. Este grupo constituye una fuente potencial en la transmisión de cepas resistentes. Es importante señalar que el principal vehículo de transmisión son las manos de los trabajadores de la salud, constituyendo por lo tanto el lavado de manos la principal medida de control en la cadena de transmisión³⁸. Lo anterior adquiere principal importancia en ambientes cerrados y considerados de alta endemicidad, como las salas de Cuidados Intensivos, donde el porcentaje de colonización de los pacientes a las 24 horas de ingreso hospitalario es de 6.9% con un rango que oscila desde 3.7% hasta el 20% de los ingresos, queda aún por determinar en estos estudios si estas cifras representan portadores sanos o son producto de colonización temprana, que en todo caso sería transmitida por el personal de salud³⁹. Esta colonización adquiere importancia clínica cuando observamos que la colonización de las vías aéreas es responsable de neumonía nosocomial precoz en estas salas⁴⁰.

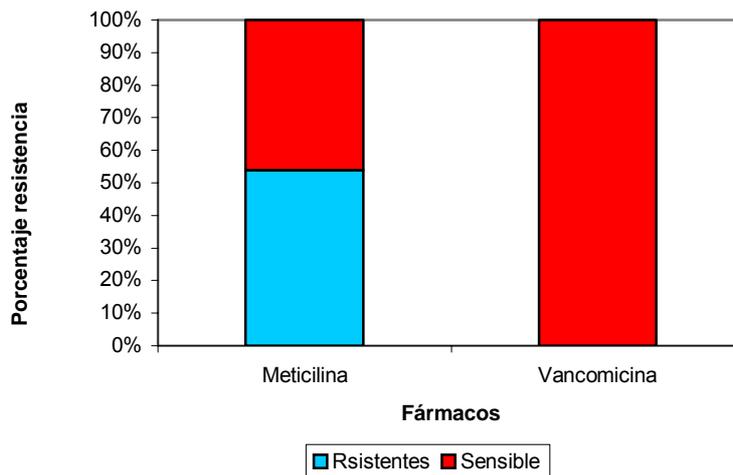
Sensibilidad a Metilina en Portadores Sanos



El comportamiento frente Vancomicina fue: Halo mínimo de 15 mm, máximo de 19 mm, promedio de 17 con una Desviación Estándar de 1.08 mm. El valor de referencia fue de 15 mm para este fármaco.

Se observó una sensibilidad del 92% y sensibilidad intermedia 8%. Este perfil observado en los portadores es similar y con tendencia ser menor que el encontrado en las cepas aisladas en los pacientes.

Perfil de resistencia de *S. aureus* aislados de portadores sanos



CONCLUSIONES

1. El perfil de resistencia de **S. aureus** fue:
 - a. El 37.2% de las cepas aisladas en el estudio fueron resistentes a la meticilina, 20.9% mostraron sensibilidad intermedia para este fármaco y el 41.8% fueron sensibles al mismo.
 - b. Existe un 6.1% de las cepas aisladas con patrones de resistencia intermedia para vancomicina. No se encontraron cepas resistentes para este fármaco.
 - c. El 93% de las cepas poseen sensibilidad frente al trimetoprim sulfá.
 - d. El 69.3% de las cepas de **S. aureus** fueron sensibles a la gentamicina.
 - e. Ninguna de las cepas aisladas mostraron sensibilidad a la penicilina.
2. La prevalencia encontrada de portadores sanos de **S. aureus** en el personal médico y paramédico del departamento de Pediatría fue de 54%.
3. Se confirmó la presencia del gen **mec A** en el 93.7% de las cepas de **S. aureus** resistentes a meticilina.

RECOMENDACIONES

Con los resultados obtenidos en el estudio, consideramos conveniente la implementación de un sistema de monitoreo de la resistencia de ***S. aureus*** a vancomicina, pues el hecho de haber encontrado datos de resistencia intermedia debe alertarnos frente a la posibilidad de la diseminación de cepas resistentes. De igual manera, mantener permanente vigilancia del comportamiento de estas bacterias frente a meticilina por el incremento en los porcentajes de resistencia encontrados.

Consideramos conveniente que las cepas de ***S. aureus*** resistentes a meticilina aisladas en el laboratorio del HEODRA, sean confirmadas en un laboratorio de referencia como el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAN de León, que cuenta con el equipo y los medios necesarios para la realización de estas pruebas.

Recomendamos que a partir de estudios como éste se revisen los protocolos actuales de uso clínico de antitímicos. Sugerimos tomar en cuenta el Trimetoprim Sulfa como alternativa en los esquemas a usar y valorar el uso de esquemas que incluyan gentamicina. Así mismo consideramos importante dejar de usar penicilinas en aquellos casos en los que se sospecha que el germen causante es ***S. aureus***.

ANEXOS

Anexo 1 Ficha recolectora de datos

Perfil de resistencia a antibióticos de *Staphylococcus sp.*

Número: _____

Fecha: _____

Nombre y Apellidos: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Servicio de Hospitalización:

Lact A: _____

Lac B: _____

Infectología: _____

Cirugía: _____

Quemados: _____

Med. Ped: _____

SCIN: _____

UCIN: _____

Diagnóstico: _____

Tipo de especimen:

Sangre: _____

Orina: _____

Pus: _____

LCR: _____

Antibióticos previo cultivo: _____

Resultados del cultivo y antibiograma

Nombre cepa bacteriana	PEN	GM	TM TX	OX	VA

PEN= penicilina, GM= gentamicina, TM TX= Trimetoprim Sulfa
OX= metilina, VA= vancomicina.

Anexo 2 Ficha recolectora de datos

Perfil de resistencia a antibióticos de *Staphylococcus sp.* en portadores sanos

Número: _____

Fecha: _____

Nombre y Apellidos: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Profesión u oficio: _____

Procedencia de la Muestra:

Fosas Nasales: _____

Resultados del cultivo y antibiograma

Nombre cepa bacteriana	PEN	GM	TXT	OX	VA

PEN= penicilina, GM= gentamicina, TXT= trimetroprin sulfa
OX= meticilina, VA= vancomicina.

REFERENCIAS

-
- ¹ Hart, C.A. and Kaniuki, S. 1998
- ² Cookson, B. and Phillips, I. 1988. Epidemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother* 21 (suppl. C):57-65
- ³ Castillo, M. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus coagulasa negativa* en cuidados intensivos de recién nacidos del HEODRA. Octubre–noviembre 1995
- ⁴ Cáceres M, Palmgren A-C and Nord C E. Antimicrobial resistance in human anaerobic microflora in Nicaragua and Sweden. *Spanish Journal of Chemotherapy*.1991.4:151-55
- ⁵ Cáceres M, Palmgren A-C and Nord C E. Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria from intestinal microflora of healthy children and antimicrobial-treated children in Nicaragua. *Spanish Journal of Chemotherapy*.1998. 3:221-228
- ⁶ Cáceres M, Zhang G, Weintraub A and Nord CE. Prevalence and antimicrobial susceptibility patten of enterotoxigenic bacteroides fragilis in children with diarrhea in Nicaragua. *Anaerobe*. In press. 1999
- ⁷ Soderquist, B,; Colque, Navarro, et al. 1993.:*Staphylococcus alfa* toxin in septicaemia patients, detection in serum, antibody responseand production isolated strains. *Serodiagn. Immunotherapy Infect Des*. 5:139-144
- ⁸ Camarena J, Sanchez Roberto. Infección por *Estafilococcus aureus* reistente a Meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Dr. Peset.Valencia.España.<http://www.cccyt15.ipn.mx/deptos/tecno/tle/microcli/pagina5.htm>
- ⁹ Patrick, C. MD, PhD. Coagulasa-negative *Staphylococci*: pathogens with increasing clinical significance. *The Journal of Pediatrics*. April 1990, vol 116, n° 497-507

-
- ¹⁰ Mollby, R. Isolation and properties of membrane damaging toxins. 1983.: Staphylococci and staphylococcal disease. Easmon, CSF., Adlam, C., (eds) Academic Press, London
- ¹¹ Jacwest. Microbiología. Editorial Interamericana. 200-50. 1990
- ¹² Jain Anjali, MD. Daum Robert S, MD. Infecciones estafilocócicas en la niñez. Pediatrics in Review en español. Septiembre 1999, vol 20, n° 7; p255-264
- ¹³ Musher, DM, et al. : Infections due to Staphylococcus aureus. Medicine 1977, 56:383
- ¹⁴ Edmond, M. MD. Wenzel, R. MD and Paculle, W ScD. Vancomycin-resistance Staphylococcus aureus: perspectives on measures for control. Annals of internal medicine. February 1996, vol 124 (3) p 329-334
- ¹⁵ Programas Educativos Especiales, Iladiba. (1999). "Enfoque Actual de la terapia antibiótica. En: Presencia UPR en la reforma de Salud y Educación Continua para el Médico Primario. N°5 de 1999.
<http://www.iladiba.com.co/upr/1999/No51999/HTM/ANTIBIO.asp>
- ¹⁶ César A. Arias, MD; MSc. , Ph. D. Guías para el uso racional de antibióticos β -Lactámicos : Mecanismo de resistencia y su interpretación clínica.
http://www.abcmedicus.com/articulo/id/185/pagina/1/uso_racional_antibioticos.html
- ¹⁷ Patrick, C. Md, PhD.: coagulase-negative Staphylococci with increasing clinical significance. The journal of Pediatric. April 1990. vol 116, pp: 497-507
- ¹⁸ Mapple, P.A.C., Hamilton, Miller et al. 1989. World wide antibiotic resistance in methicillin resistant Staphylococcus aureus. lancet 1:537-540
- ¹⁹ Wenzel, R.P..MD. Nettleman, R.N. Jones and Pfaller, M.A. 1991. Methicillin - resistant Staphylococcus aureus: implications for the 1990's and effective control measures. Am Journal Med.91 (suppl 3B):2215-2275

²⁰ L. Torroba , M. Rivero , I. Otermin , A. Gil , A. Iruin , E. Maraví-Poma , J.J. García Irure . Resistencia antimicrobiana y política de antibióticos: MRSA, GISA y VRE *Antimicrobial resistance and antibiotics policy: MRSA, GISA and VRE*. Hospital Virgen del Camino. Pamplona Servicio de Microbiología,;ANALES Sis San Navarra 2000, Vol. 23, Suplemento 2

²¹ Departamento de Microbiología de la Universidad de Murcia, España.
http://www.humv.es/investigacion/uai/MEMORIA2001/AREA_3_AGRESION_BIO_INMUNIDAD/MICROBIOLOGIA.pdf

²² Clyde Thornberry, Cheung Yee. Comparative activity of eight antimicrobial agents in clinical bacterial isolates from the United States measured by two methods. The American Journal of Medicine. Vol 100 suppl 6. June 24, 1996 6-27

²³ Henderson, C.W., Resistance to vancomycin in U.S. hospitals. Health letter on the CDC. December 1995. p2, p173

²⁴ Noble, W.C., Virani, Z Cree. RGA.: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from enterococcus faecalis NCTC 12201 to staphylococcus aureus. FEMS Microbiol Lett. 1992. 72: 195-198

²⁵ Mahon.C., Manuselis.G.(1995) Textbook of Diagnostic Microbiology.

²⁶ Stubbs E, Pegler M, Vickery A, Harbour C. Nasal Carriage of Staphylococcus aureus in Australian (Pre clinical and clinical) medical students. Journal Hosp Infect 1994 June: 27(2):127-34

²⁷ Lacey Sandra et al. El uso de máscaras reduce portadores de Staphylococcus en UCI. Journal Hosp Infect 2001 48(vi) 308-311

²⁸ Nordace Heranadez, Nodarce Rafael. Estafilococo multirresistentes: uso de disco de oxacillin como marcador de resistencia a antibióticos. Instituto superior de Medicina Militar "Dr. Luis Días Soto" Rev Cubana Med Milit 2001; 30 (1): 710

²⁹ Sakoulas George. Et al. Methicillin – Resistant Staphylococcus aureus: Comparison of susceptibility Testing Methods and Analysis of *mecA* – Positive Susceptible Strains. Journal of clinical Microbiology, Nov. 2001, p. 3496 – 3551.

30 Carera, Eugenia. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias aisladas en Hospitales de Nicaragua. Tesis de Maestría en Bioquímica Clínica. Facultad de Medicina UNAN-León (2003).

³¹ Berger-Bachi B. Expresión of resitance to Methicillin. Trends Microbiol 1994; 2:389-92

³² Kyung Hi Kim, Carmen Pérez Salúm , Min Ho Kim , Juana Ortellado de Canese
Perfiles de resistencia antimicrobiana de Staphylococcus aureus y Staphylococcus coagulasa negativos, aislados del Hospital de Clínicas, Asunción, Paraguay

³³ Parker MT, Hewitt JH. Methicillin resistance in Sataphylococcus aureus. Lancet 1970; 1:800-04

³⁴ Sanford Guide 1997. 53

³⁵ Bautista Alavez A, Kato-Maeda M, Rolón Montes de Oca AL, Ramos Hinojosa A, Ponce de León A, Bobadilla del Valle M, Ruiz Palacios G, Sifuentes Osornio J. Impacto Del Incremento En La Resistencia Antimicrobiana En El Manejo Empírico De Las Bacteremias Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INNCMNSZ) Vasco de Quiroga 15, Tlalpan, México D.F.

³⁶ Hormaza, Leonardo. Irizarry, Nermarí. Lagrandie, Olga r; Comparación de sensibilidad de Staphylococcus aureus a los antibióticos Gentamicina y Meticilina.

³⁷ Alghaithy AA, Bilal NE, Gedebou M, Weily AH. Nasal carriage and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolates from hospital and non-hospital personal in Abha, Saudi Arabia. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000 Sep-Oct. 94(5):504-7

³⁸ Division of Infectious Diseases, Hospital of Saint Raphael, New Haven, CT 06511, USA. JBoyce@srhs.org. MRSA patients: proven methods to treat colonization and infection. Boyce JM J Hosp Infect 2001 Aug;48 Suppl A:S9-14

³⁹ Lucet JC, Chevret S, Durand-Zaleski I, Chastang C, Regnier B; Multicenter Study Group. Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit: results of a multicenter study. Arch Intern Med 2003 Jan 27;163(2):181-8

⁴⁰ Rodríguez Elena, Sevillano M^a Eugenia, Gutiérrez, Domínguez Silvia Serida, Renedo Carlos, Fontaneda Daniel. COLONIZACION Y NEUMONIA EN UCI Complejo Hospitalario. León México.