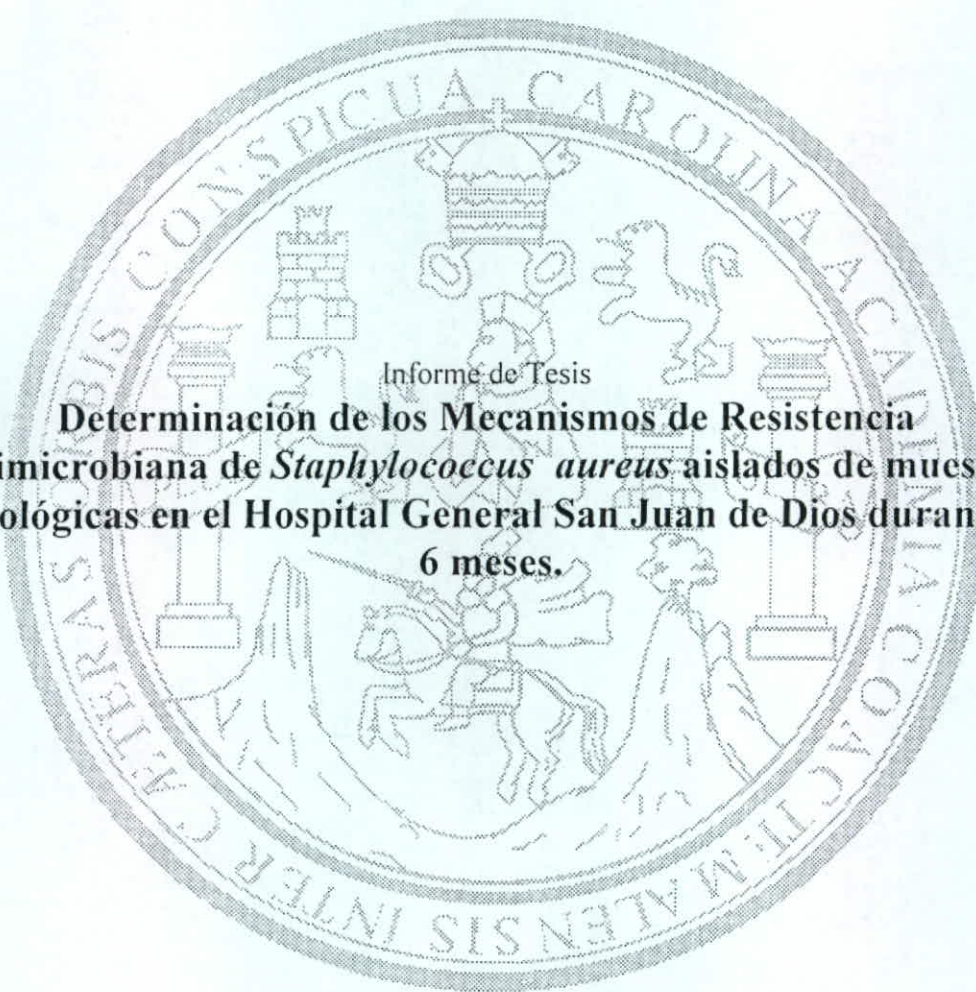


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



Informe de Tesis
**Determinación de los Mecanismos de Resistencia
Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislados de muestras
biológicas en el Hospital General San Juan de Dios durante
6 meses.**

Presentado por
JENIFFER PAZ TEYUL

Para optar al título de
QUIMICA BIOLOGA

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DEL 2005

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
T(2343)

JUNTA DIRECTIVA

M.Sc Gerardo Leonel Arroyo Catalán	DECANO
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona	SECRETARIA
Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo	VOCAL I
Licda. Liliana Vides de Urizar	VOCAL II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	VOCAL III
Br. Juan Francisco Carrascoza Mayen	VOCAL IV
Br. Susana Elizabeth Aguilar Castro	VOCAL V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS Y A LA VIRGEN MARÍA:

Por darme salud y permitirme llegar a la culminación de ésta importante etapa de mi vida.

A MIS PADRES:

Arnoldo Paz de la Cruz (Q.E.P.D.) y Lidia Vda. De Paz, gracias por el gran esfuerzo realizado, los sabios consejos y por no dejarme caer en los momentos más difíciles que hemos vivido.

A MIS HERMANOS:

Berner, Maritza y Diana, por su apoyo y comprensión en todo momento.

A MIS SOBRINOS:

Juan Carlos, Cristhian, Astrid, Kellyn y Miguel Angel, por ser la luz y la alegría de la familia.

A MIS AMIGAS:

Alma Jo, Tania Molina, Sandra Barrios, Mabel Castañeda, Nineth Montenegro, en especial a Vanessa Salazar y Verónica Itzep; gracias por su amistad sincera y por su apoyo en todo momento.

A SERGIO GIRON:

Gracias por toda la paciencia que me ha tenido y por el amor que me ha dado siempre.

A USTED:

Especialmente.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A los Laboratorios de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios y del Laboratorio Nacional de Salud.

A mis asesores Lic. Jorge Matheu y Licda. Tamara Velásquez.

A mis revisores Licda. Alba Marina de García y Licda. Blanca Samayoa.

A las secretarias de la Escuela de Química Biológica con especial cariño.

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	2
III.	ANTECEDENTES	3
A.	Estafilococos	
	1. Características Generales	3
	2. Infecciones causadas por estafilococos	3
B.	Antibióticos	
	1. Selección	6
	2. Clasificación	7
	3. Mecanismos de acción	8
	4. Uso prudente de antibióticos	8
C.	Mecanismos de Resistencia Microbiana	9
	1. Mecanismos Genéticos	10
	2. Mecanismos Bioquímicos	12
D.	Estudios Epidemiológicos	16
IV.	JUSTIFICACION	23
V.	OBJETIVOS	24
VI.	MATERIALES Y METODOS	25
VII.	RESULTADOS	29
VIII.	DISCUSION DE RESULTADOS	35
IX.	CONCLUSIONES	40
X.	RECOMENDACIONES	41
XI.	BIBLIOGRAFIA	43
XII.	ANEXOS	50

I. RESUMEN

En ésta investigación se determinó la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en los cultivos de muestras biológicas recolectadas en el Hospital General San Juan de Dios durante 6 meses, así como la variación de resistencia y la detección del mecanismo específico MLS (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas) en dichas cepas. Se utilizó el método del Test de Difusión por Disco, según la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) en 200 aislamientos *Staphylococcus aureus*; la lectura de placas se realizó midiendo los tamaños de zonas de inhibición y fueron interpretados con los criterios de las normas NCCLS. Utilizando el programa de WHONET se interpretaron los resultados, obteniendo que las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas del Hospital General San Juan de Dios (HGSJD) en el período de Febrero a Julio del 2004 posee un patrón de resistencia similar entre ellas; además de observar que el 83% de éstas 200 cepas son Oxacilino-Resistente (ORSA o MRSA), también se observa que únicamente el 4% presentó el mecanismo de resistencia específico MLS (inducible).

En este estudio también se logró determinar que las secreciones, catéteres y heridas quirúrgicas son las localizaciones anatómicas más frecuentes de aislamiento con un 35, 19 y 14% respectivamente; y los servicios que presentaron mayor número de aislamientos de *Staphylococcus aureus* fueron los de Cirugía, Medicina y Emergencia con un 29, 23 y 13 %, respectivamente.

Debido a los resultados obtenidos se concluye que las cepas de *S.aureus* estudiadas presentaron un patrón similar de multirresistencia antimicrobiana entre ellas. Además el origen de las distintas cepas no se pudo definir entre nosocomial o comunitario, por no conocerse el historial médico de los pacientes. El SXT, es en éste momento el mejor antimicrobiano al que se puede recurrir como antibioterapia.

II. INTRODUCCION

En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas de identificación de microorganismos causantes de procesos infecciosos y han surgido nuevas generaciones de antimicrobianos, permitiéndole al médico moderno actuar de una forma más efectiva contra las infecciones. Sin embargo, aunque desde 1940 estos agentes antimicrobianos han salvado millones de vidas, hoy en día aparecen enfermedades infecciosas que no responden a ellos, debido a que las bacterias están desarrollando, cada vez con mayor frecuencia, resistencia a estos fármacos (1).

Esta resistencia fue prevista por los científicos cuando se introdujeron por primera vez los antibióticos, pero nadie esperaba que se desarrollaran cepas resistentes tan rápidamente y se esparcieran con tanta facilidad (2).

Actualmente la elevada resistencia puede estar unida al sobre uso e inadecuada utilización de estos medicamentos en los países desarrollados, debido a la excesiva prescripción y el uso indiscriminado de los antibióticos. En los países en desarrollo recae principalmente en la venta de éstos sin receta, combinaciones de drogas, falta de información en la presentación del medicamento y dificultades en la educación del personal médico (1,3)

En muchos países del mundo, *Staphylococcus aureus* dejó de ser un microorganismo que produce solamente infecciones de piel y tejido blando y ahora está surgiendo como un patógeno nosocomial con cierta resistencia hacia los antimicrobianos. Por dicha razón en este estudio, la vigilancia de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, en el Hospital General San Juan de Dios de Guatemala, es necesaria e importante, ya que con esto, se pueden proponer las medidas necesarias para disminuir la resistencia de éste microorganismo a nivel hospitalario (4,5,6).

III. ANTECEDENTES

A. Género *Staphylococcus*:

1. Características Generales:

Los miembros del género *Staphylococcus* son células esféricas que se presentan solas y en ocasiones en pares, pero con mayor frecuencia como grumos irregulares. Son microorganismos gram positivo, inmóviles, no forman esporas y son anaerobios facultativos (7,8).

La clasificación de los estafilococos separa a éstos de los micrococos con base en su capacidad para fermentar la glucosa con la producción de ácidos. Así los miembros del género *Staphylococcus* fermentan la glucosa y producen ácido, en tanto que el género *Micrococcus* es incapaz de hacerlo. Además para distinguir estafilococos de estreptococos, se puede utilizar la prueba de catalasa, enzima presente en los estafilococos, degradará el peróxido de hidrógeno para formar agua y oxígeno (7,8,9).

Existen tres especies reconocidas de estafilococos: *S.aureus*, *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*. Esencialmente todos los padecimientos serios en los que intervienen los estafilocos están causados por *S. aureus*. La capacidad de este organismo para producir enfermedad depende de su capacidad para resistir la fagocitosis y el efecto de algunas de las toxinas y enzimas secretadas por la célula (7).

2. Infecciones causadas por estafilococos:

Existen dos grandes grupos de infecciones provocadas por el estafilococo. Casi todos los estafilococos de cultivos de piel normal pertenecen al grupo de *Staphylococcus epidermidis*. Este microorganismo es coagulasa negativo. El segundo grupo pertenece al *Staphylococcus aureus*, el cual demarca una infección estafilocócica coagulasa positiva (1,7)

Existen otras diferencias que delimitan claramente a estos dos patógenos. La presencia de enterotoxina y de proteína A en *S. aureus* que le otorga capacidades patogénicas y de agresión de primer orden. La resistencia antimicrobiana del *S. aureus* ha presentado toda una barrera al trabajo médico; en realidad, es quizá la bacteria patógena para el hombre que ha generado más problemas por su gran versatilidad para desarrollar resistencia a los antimicrobianos (1).

Staphylococcus aureus constituye la especie de mayor importancia clínica humana dentro de su género. Aunque esta especie en ocasiones puede estar presente en la microbiota normal como un comensal, en otros casos, puede ser el agente etiológico de enfermedades infecciosas muy severas y diversas. Ninguna bacteria patógena humana es tan versátil ni ha desarrollado tantos mecanismos de resistencia frente a los antimicrobianos como *S. aureus*, lo que unido a su corto tiempo de generación, hace de esta especie un agente poderoso y temido en lo referente a la salud humana, sobre todo en las infecciones hospitalarias, por lo que requiere de una terapéutica acertada para su tratamiento (2).

En las infecciones estafilocócicas las penicilinas eran el tratamiento de primera elección; y en poco tiempo se fueron desarrollando cepas resistentes que hicieron ineficaces a las penicilinas naturales. Se sabe con certeza que la resistencia a la penicilina G obedece a la presencia de una enzima constitutiva, la penicilinasasa, una betalactamasa que inactiva al antibiótico, actividad que también le ha conferido resistencia ante un sin número de penicilinas sintéticas, particularmente las cefalosporinas (1).

Se trata quizá de una de las bacterias con una actividad no igualada en la historia de la bacteriología. Desarrolla enzimas extracelulares, exotoxinas y factores patogénicos como lisozimas, toxinas, coagulasas, betalactamasas, hialuronidasas, lipasas, proteasas, DNAasas y fosfatasas (1).

Entre otras condiciones se caracteriza por alcanzar una colonización muy rápida que presenta mayor afinidad por determinadas zonas corporales. Así los estafilococos se pueden encontrar en la parte anterior de las fosas nasales, en la garganta y en las heces. La dosis

infectante varía considerablemente con la edad; para los neonatos es mucho menor que la necesaria para un adulto. El contagio se hace habitualmente por las manos y es muy importante en aquellos que padecen dermatosis tipo forunculosis, psoriasis o dermatitis exfoliativas. A diferencia de otros microorganismos, las gotas de las secreciones faríngeas no son vehículos importantes para el contagio (1,2).

El manejo y aplicación de los catéteres intravenosos, las suturas e implementos médicos expuestos al medio ambiente son condiciones que favorecen la implantación de los estafilococos. El uso indiscriminado de los antibióticos aumenta la tasa de portadores (1,2).

En cuanto a su respuesta inmunitaria, estos patógenos son bacterias inmunogénicas al igual que muchos de sus productos extracelulares, con la diferencia de que los anticuerpos producidos durante y después de un proceso infeccioso no impiden que vuelva a ocurrir otro episodio (7).

En las infecciones crónicas los estafilococos son inactivados por la acción de la respuesta inflamatoria a través de la fagocitosis y la propia lisis intracelular bacteriana, en presencia de células fagocíticas como los neutrófilos en la sangre y macrófagos en los tejidos. La presencia de anticuerpos opsonizantes que facilitan la fagocitosis es definitiva para el control de la infección (2).

En el cuadro clínico cabe destacar que el *Staphylococcus aureus* tiende a causar infecciones cutáneas más localizadas que los estreptococos, y es común que se formen abscesos (2).

Las infecciones de la piel suelen comenzar alrededor de un folículo piloso; la foliculitis subsecuente progresa hasta alcanzar la forma de furúnculos y tiende a diseminarse afectando zonas extensas de la piel y tejido subcutáneo; los cultivos del material de la herida o absceso identifican al microorganismo (7,10).

Las infecciones por estafilococos es quizá una de las entidades infecciosas que más cambios ha presentado en sus características de resistencia a partir de la aparición de los

antibióticos. En un principio en las infecciones estafilocócicas se indicaba como tratamiento de primera elección la penicilina; poco tiempo se requirió para que las cepas se hicieran resistentes a ésta. Este mismo camino han seguido las penicilinas sintéticas, con la desventaja para el médico de que las enzimas constitutivas encargadas de la resistencia, cada vez la realizan con más efectividad (10).

Los agentes causales más frecuentes de estas infecciones primarias de anexos cutáneos son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Las formas de presentación son: epidérmicas (impétigo), epidermodérmicas (ectimas, foliculitis, erisipela) y dermohipodérmicas (abscesos, celulitis, flegmones, adenitis, etc.) (11,12).

S. aureus es quizás el patógeno de mayor preocupación debido a su multiresistencia por su virulencia intrínseca, habilidad de causar una serie diversa de infecciones vida-amenazantes, y su capacidad de adaptarse a las condiciones medioambientales diferentes. La mortalidad por *S. aureus* sigue siendo 20-40% aproximadamente a pesar de la disponibilidad de antimicrobianos eficaces y es ahora la causa global principal de infecciones nosocomiales (12,13).

B. Antibióticos:

1. Selección:

Desde que el término antibiótico (ATB) fuera propuesto hace más de 50 años por Waksman, descubridor de la estreptomicina, basado en el concepto de "antibiosis" de Vuillemin (1889) para describir cómo sustancias producidas por algunos seres vivos tenían efectos deletéreos sobre otros organismos; ahora contamos con más de 15 derivados de la penicilina, y más de 15 derivados de las cefalosporinas para escoger. Como contraparte, el espectro de microorganismos se ha ampliado y ha variado sus patrones de resistencia. El resultado global es que los ATBs constituyen actualmente los agentes terapéuticos más empleados en todo el ámbito de la medicina, por ejemplo, se estima que un 25 - 60 % de pacientes hospitalizados reciben uno o más ATBs (14-17).

La presión de la industria farmacéutica; la manera como los médicos reciben información sobre nuevas drogas; la enseñanza sobre su uso en la Universidad; la confianza, muchas veces ciega, de que la última droga y la más cara es la mejor; y la falta de interés por los médicos en los costos de salud, han condicionado que el mal uso de antibióticos se constituya en un problema real e importante. Como resultado, se estima que alrededor del 50 % de pacientes hospitalizados reciben tratamiento ATB inapropiado y las implicancias económicas para los sistemas de salud son impresionantes (14,17,18-22).

La miocamicina es un nuevo antibiótico, administrable por vía oral, del grupo de los macrólidos, con anillo lactónico de 16 átomos. Posee ventajas cinéticas resumidas en: rápida absorción gástrica, rápida distribución en los tejidos, con permanencia prolongada doble ciegos en la piel (22).

La eficacia clínica de miocamicina ha sido evaluada mediante estudios controlados en infecciones de piel y tejidos blandos, presentando un 73.5% de eficacia en esos casos. La miocamicina es un macrólido con buena tolerancia oral y menos efectos colaterales que la mitromicina, según trabajos evaluados (22).

Su espectro de actividad antimicrobiana es potente contra Gram positivo y algunas bacterias Gram negativo. La actividad antibacteriana es debida a la inhibición de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad 50 S del ribosoma microbiano (22).

2. Clasificación:

Existen muchas clasificaciones de ATBs, sin embargo, probablemente la de mayor utilidad en la práctica diaria es la diferenciación entre ATBs bactericidas y bacterioestáticos. En general, los ATBs bacterioestáticos son agentes de amplio espectro, así como los ATBs bactericidas suelen ser de espectro reducido. Algunas particularidades a tener en cuenta incluyen: algunas cepas de *Listeria monocytogenes* y de *Streptococcus*

faecalis pueden mostrar tolerancia al imepenem; como se sabe, la asociación sulfametoxazol-trimetoprim (cotrimoxazol) es bactericida; además algunos ATBs bacterioestáticos a grandes dosis se comportan como bactericidas; y se ha demostrado que cloramfenicol es bactericida cuando se emplea contra *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis* (15,20).

3. Mecanismo de Acción:

El conocimiento general del mecanismo de acción no solo es útil biológicamente, sino que es imprescindible para entender los mecanismos de resistencia respectivos (14).

Existen diversas maneras mediante las cuales los agentes antimicrobianos combaten a los agentes infecciosos:

- a) Ataque a pared celular: Penicilinas, Cefalosporinas, Vancomicina.
- b) En la síntesis proteica: Aminoglucósidos (30S), Tetraciclinas (30S), Cloramfenicol (50S), Eritromicina (50S), Lincomicinas (50S).
- c) En síntesis del ADN: Acido nalidíxico, Acido oxolínico, Fluoroquinolonas, Griseofulvina.
- d) En síntesis del ARN: Rifampicinas, Etambutol.
- e) Intervención en el metabolismo del Acido Fólico: Sulfonamidas, Trimetoprim, Pirimetamina.
- f) Con detergentes de Superficie: Polimixina, Anfotericina-B.
- g) Enzimas Celulares: Nitrofurantoína, Metronidazol, Azoles (16).

4. El uso prudente de los antibióticos:

Resulta indispensable desarrollar nuevos medicamentos para asegurar la disponibilidad de tratamientos eficaces contra infecciones bacterianas agresivas. Del mismo modo, también es esencial que estos nuevos medicamentos en concreto, al igual que los

anteriores, se usen de una manera mas restringida y siempre apoyada en sólidos conocimientos médicos (24).

Además, muchos antibióticos son compuestos químicos estables que no se descomponen en el cuerpo y que permanecen activos después de su excreción. En la actualidad, los antibióticos contribuyen considerablemente al creciente problema de las sustancias médicas activas presentes en el medio ambiente (24).

C. Mecanismos de Resistencia Microbiana:

Consideramos a la resistencia microbiana como la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo resultan también insensibles al antimicrobiano en cuestión. Si bien cualquier microorganismo puede desarrollar resistencia a los antimicrobianos, este fenómeno ha sido estudiado más ampliamente en las bacterias (25-31).

Aunque la resistencia no es un fenómeno universal, se afirma que tarde o temprano las bacterias desarrollan resistencia a cualquier antimicrobiano; en realidad, hay algunas excepciones a esta afirmación siendo una de las más notables la ausencia de resistencia, hasta el momento, de *Treponema pallidum* a la penicilina G (32,33).

La resistencia microbiana constituye un problema de grandes implicancias clínicas, pues obliga al desarrollo y utilización de nuevos agentes antimicrobianos, siempre más costosos y muchas veces más tóxicos que los empleados habitualmente en el tratamiento de las infecciones; además ha obligado a abandonar y eliminar del arsenal terapéutico a muchas drogas que inicialmente fueron muy útiles; ya que el abuso y uso excesivo de los antimicrobianos ha incrementado la resistencia a dichos agentes (17,31,34,35).

Es curioso y a la vez significativo pensar que pocos años más tarde la repetición de esa experiencia habría resultado imposible, ya que con el uso de la penicilina, el *Staphylococcus aureus* había desarrollado resistencia (32,36).

1. Mecanismos Genéticos:

Los cambios genéticos que explican la resistencia pueden producirse por varios mecanismos que involucran ya sea al DNA cromosomal, como en la mutación, o por la adquisición de material genético extracromosomal, por transducción, transformación o conjugación (1,21,28,37).

En la mutación, aparecen cambios en el cromosoma que pueden ser debidos al azar o a la influencia de agentes físicos o químicos y de hecho no necesariamente debidos a la exposición al antimicrobiano, como se demuestra por la observación de que muchos microorganismos aislados antes de la aparición de los antibióticos han presentado mutaciones que los han hecho insensibles a los antibióticos luego de que éstos fueron descubiertos. Aunque el antimicrobiano no es el causante de la mutación, tiene sin embargo un papel importante en la selección de las cepas resistentes, ya que cuando el antimicrobiano se administra a un paciente con un cultivo bacteriano en el que existen cepas sensibles y otras con mutación que les confiere resistencia, el antimicrobiano eliminará a los microorganismos sensibles dejando solo a los resistentes. La velocidad de aparición de las cepas mutantes es muy variable y puede ocurrir muy rápidamente en algunos casos o por el contrario en forma muy lenta y gradual, a lo largo de los años (25,32).

Comúnmente, la alteración genética que condiciona la resistencia es producida mediante la adquisición, por parte del microorganismo, de genes transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación (36,37).

En la transducción, un virus bacteriófago transfiere DNA extracromosomal bacteriano incorporado en su cubierta proteica, desde una bacteria insensible a una sensible, la cual adquiere la resistencia y la capacidad de transferirla a su descendencia, tal como se ha observado en cepas de *Staphylococcus aureus* que adquiere resistencia a las penicilinas (1,8,25,35,37).

En el proceso de transformación, las bacterias sensibles pueden incorporar DNA del medio ambiente y si éste posee genes que codifican para resistencia, la bacteria se convierte en resistente para uno o más antimicrobianos (8).

La conjugación es un importante mecanismo de adquisición de resistencia microbiana y consiste en el pasaje de genes (determinantes R) desde una bacteria resistente a una sensible, mediante acoplamiento directo entre las bacterias mediante la formación de un pili sexual. Los factores R pueden contener información para brindar resistencia a varios antimicrobianos a la vez y esto ocurre muy rápidamente, en un solo paso. Para que ocurra la conjugación entre bacterias y la formación del pili sexual, es necesaria la intervención de otro grupo de genes denominado factor de transferencia de la resistencia, sin los cuales no puede realizarse el proceso. El complejo determinante R más el factor de transferencia de la resistencia es conocido como factor R. La aparición de resistencia mediada por factores R es muy importante entre bacterias gram negativo, en especial entre Enterobacterias (8,25,26,37).

El mecanismo de resistencia más importante del grupo de macrólidos-lincosamida-estreptogramina (MLS) es la modificación del blanco a través de los genes erm, los que codifican las metilasas ribosómicas, que pueden expresarse en forma constitutiva o inducible (38,39).

El mecanismo MLS inducible se observa cuando la eritromicina es resistente y la clindamicina es susceptible, detectándose por medio de la ausencia de un halo de inhibición frente a la eritromicina y un achatamiento en el halo de la clindamicina, por

acción de la metilasa, finalmente se debe interpretar resistente para ambos antibióticos (39).

El otro mecanismo de resistencia es una bomba activa de eflujo a través de los genes *mef*. Los ketólidos no inducen la expresión génica de metilasas en las cepas con resistencia inducible a la Eritromicina. Además su actividad no es afectada por los mecanismos de eflujo o de resistencia MLS (38,39).

2. Mecanismos Bioquímicos:

Los cambios genéticos producidos dan lugar a diversos tipos de alteraciones bioquímicas en el metabolismo bacteriano, las cuales pueden ser de tres tipos generales : cambios en el sitio de acción del antimicrobiano, producción de enzimas que modifiquen a la droga o disminución de la captación del antimicrobiano (25,38).

Se ha demostrado cambios en el sitio de acción del antimicrobiano en los siguientes casos:

1. Para aminoglucósidos, cambios en la proteína receptora de la subunidad 30S.
2. Para beta lactámicos, alteraciones o aparición de nuevas proteínas fijadoras de penicilinas.
3. Para eritromicina y clindamicina, metilación del RNA ribosomal en la subunidad 50S.
4. Para quinolonas, alteraciones en la DNA girasa.
5. Para trimetoprim, cambios en la dihidrofolato reductasa bacteriana.
6. Para sulfonamidas, cambios en la dihidropteroico sintetasa.
7. Para rifamicinas, alteraciones en la RNA polimerasa DNA dependiente.
8. Para vancomicina, cambios en los péptidos de la pared celular bacteriana.

En lo relativo a la adquisición por parte de la bacteria de la capacidad de formar enzimas que inactiven a antimicrobianos, se conocen los siguientes casos: a) Para aminoglucósidos, la aparición de enzimas adenilantes, acetilantes y fosforilantes. b) Para

cloramfenicol, la producción de acetiltransferasa. c) Para beta lactámicos, la destrucción de los antibióticos por enzimas beta lactamasas (37,38).

Finalmente, los cambios bioquímicos que reducen la captación, ya sea porque reducen el ingreso o porque aumentan la salida o el flujo del antimicrobiano, se han encontrado los siguientes casos: a) Aumento del flujo: Para tetraciclinas, macrólidos y quinolonas, mediante la adquisición de nuevos sistemas de transporte en la membrana citoplasmática. b) Reducción del ingreso por disminución de la permeabilidad: Para trimetoprim, quinolonas, tetraciclinas, cloramfenicol y beta lactámicos, por cambios en la constitución de la membrana celular externa (23,38).

Los mecanismos bioquímicos sólo pueden ser adecuadamente comprendidos en base a los mecanismos de acción de los antimicrobianos, así como los mecanismos mediante los cuales estas drogas acceden al microorganismo (8,38).

a. Resistencia a beta lactámicos: Estos antibióticos tienen un mecanismo de acción común. Inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, en especial la formación de puentes cruzados entre las diversas capas de peptidoglicano, que normalmente brinda rigidez a la pared celular y protege a la membrana celular del ingreso de cantidades excesivas de agua a la bacteria, que ocurriría debido a la elevada concentración de solutos en estos microorganismos. La formación de puentes cruzados es efectuada por proteínas con acción de transpeptidasas, denominadas proteínas fijadoras de penicilinas (PFP). Debe también recordarse que cuando los antibióticos beta lactámicos son expuestos a enzimas del grupo de las beta lactamasas, estos se convierten en inactivos, debido a destrucción (ruptura) del anillo beta lactámico (27,38).

Relacionado a este último aspecto, se ha logrado sintetizar antimicrobianos que son resistentes a las beta lactamasas del *Staphylococcus aureus*, como por ejemplo, la dicloxacilina (38).

Se conoce también que existen cepas de estafilococos resistentes a la meticilina. En la mayor parte de estos casos, la resistencia se debe a la producción de una enzima que mantiene la integridad de la pared celular bacteriana a pesar de que las proteínas fijadoras de penicilinas normales son inactivadas por el antibiótico. Esta enzima es una proteína fijadora de penicilina denominada PFP 2a o PFP2'. Esta es codificada por un gen cromosómico adquirido denominado *mecA*, el que está ausente cuando la bacteria es sensible a meticilina. Este mecanismo explica por qué el 15% de los *Staphylococcus aureus* hospitalarios, el 75% de *Staphylococcus epidermidis* y el 80% de *S. haemolyticus* son resistentes a meticilina (38).

b. Resistencia a aminoglucósidos: La resistencia a los aminoglucósidos puede ocurrir mediante la intervención de tres mecanismos, que son: a) Variaciones en el receptor, a nivel de la subunidad 30S. b) Modificación enzimática del antibiótico. c) Reducción del ingreso del antibiótico a la célula bacteriana. De estos mecanismos, es indudable que el segundo es el más importante y el que mejor ha sido estudiado. La modificación del aminoglucósido puede efectuarse por fosforilación, adenilación o acetilación. Algunas enzimas bacterianas tienen doble capacidad funcional y pueden ser, por ejemplo, fosforilantes y acetilantes a la vez, como ocurre con la enzima 6' acetilante y 2' fosforilante que brinda capacidad defensiva al estafilococo aureus frente a gentamicina y otros aminoglucósidos; esta enzima fosforila a la gentamicina en 2' mientras que es capaz de acetilar en 6' a la amikacina y kanamicina. Los genes que codifican para esta enzima en estafilococos pueden ser adquiridos de otros estafilococos por plásmidos o por DNA en forma de transposones (28,38).

Dado que los antibióticos aminoglucósidos deben ingresar al interior de las bacterias para impedir la síntesis proteica y teniendo en cuenta que el ingreso de estas drogas es un proceso activo que involucra la intervención de mecanismos oxidativos, las bacterias han logrado desarrollar resistencia a los aminoglucósidos bloqueando su ingreso, es decir haciéndose impermeables al antibiótico. La adición de antibióticos de pared como las penicilinas a la terapia con aminoglucósidos puede incrementar la entrada del

aminoglucósido al interior de la bacteria aumentando así la eficacia de la acción antimicrobiana (25,26).

c. Resistencia a Quinolonas Fluoradas: Las quinolonas son los quimioterápicos antimicrobianos que han tenido un mayor desarrollo en los últimos 10 años. Actúan tanto sobre bacterias extracelulares como sobre las intracelulares y su actividad antimicrobiana depende de su capacidad de inhibir a la DNA girasa, complejo enzimático formado por subunidades A y B, que interviene en los procesos de replicación y de transcripción del DNA (27).

La frecuencia de aparición de resistencia a los antimicrobianos es tan grande y rápida que aparentemente está ganando a la velocidad con que se obtienen nuevos antimicrobianos. Por otro lado, la resistencia no ocurre para un solo antimicrobiano sino que en la mayor parte de los casos tiene un carácter múltiple, por lo que en futuro muy cercano, la mayor parte de las infecciones podrían ser producidas por microorganismos con múltiple resistencia. El control en el uso de antimicrobianos se hace cada vez más necesario y evidentemente contribuirá al control en la velocidad de aparición de resistencia (4,5,6,22,25).

El uso de antimicrobianos requiere de un adecuado conocimiento de las características y potencialidad de cada droga y de un preciso criterio clínico para utilizar los antimicrobianos sólo en aquellos casos en que están indicados y en caso de tomar la decisión de usarlos, aplicarlos en las dosis adecuadas y por el tiempo suficiente (23,25,36).

Los antimicrobianos son fármacos con un impacto clínico y económico importante por lo que han sido objeto de una vigilancia especial, creándose Programas y Políticas de Control de los mismos; incluso se han creado organizaciones internacionales como la Alianza para el uso Prudente de Antibióticos (APUA) dedicada exclusivamente a la preservación y protección de los antibióticos y es conocida especialmente por microbiólogos e infectólogos, que ostenta actualmente un conjunto de 29 Capítulos en los cinco continentes y con miembros provenientes de más de 100 países. APUA mantiene

estrechos contactos científicos con instituciones dedicadas a la preservación de la salud, como Organización Mundial de la Salud, Oficina Panamericana de la Salud, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades Transmisibles de los Estados Unidos de América (CDC), la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América (FDA) y los Ministerios de Salud de varios países. En Latinoamérica funcionan ya, o se encuentran en plena organización, los Capítulos de Argentina, Brasil, Colombia, Cuba, República Dominicana, Ecuador, Guatemala, México, Uruguay y Venezuela (10,41)

Los antibióticos constituyen uno de los grupos de fármacos más prescritos en el medio extrahospitalario, y el responsable de un importante porcentaje del gasto de farmacia en un hospital. El abuso o mal uso de los mismos tiene un efecto negativo no sólo para el paciente sino para la comunidad, tanto por la creación de resistencias bacterianas como por el coste que implica (10,13,23,35).

D. Estudios Epidemiológicos:

El descubrimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos surgió poco después de iniciado el uso de la penicilina. Ya en 1944 se reportaron cepas de *Staphylococcus aureus* productora de betalactamasas que hidrolizaban la penicilina y la hacían inefectiva. Aunque inicialmente este tipo de resistencia sólo sucedía esporádicamente, rápidamente se propagó. En 1946 el 14% de los *Staphylococcus aureus* nosocomiales producían betalactamasas, en 1950 la cifra ascendía al 59%, y actualmente, en España, un reporte indica que el 95% de las cepas de *S. aureus* son productoras de betalactamasas (3,4).

En el momento de elegir un antibiótico se debe tomar en cuenta varios factores, tales como la naturaleza de la infección, farmacocinética y farmacodinamia de la droga y el tipo de microorganismo; es muy importante conocer también los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cada institución de salud (33).

En el año 1987 se creó el Programa Venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos; actualmente participan 29 laboratorios de Microbiología de diferentes hospitales del país. Esta red forma parte de un Sistema Internacional de Vigilancia de la Resistencia (WHONET), que depende de la Organización Mundial de la Salud, en el que participan 53 países del mundo (33).

Staphylococcus aureus produce con frecuencia infecciones de piel y tejidos blandos; actualmente está surgiendo como patógeno nosocomial importante. En Venezuela se observa una alta resistencia a penicilina, que se ha mantenido en los últimos ocho años entre el 91 y el 97%, situación que es similar a la ocurrida en otros países. La resistencia a oxacilina (ORSA) es debida a alteraciones de la PBP2a, lo que le confiere resistencia a este antibiótico y a otros betalactámicos, como penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenemos e, incluso, a combinaciones con inhibidores de betalactamasas. Se está observando con preocupación el ascenso de los niveles de resistencia a las fluoroquinolonas usualmente utilizadas en cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e incluso, en *E. coli* aisladas de muestras tanto ambulatorias como intrahospitalarias. Mutaciones cromosómicas a nivel de la ADN girasa y alteraciones de las porinas en la membrana han sido los mecanismos usualmente implicados (33).

El Programa Venezolano de Vigilancia de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos se ha mantenido activo en estos 12 años, gracias a la participación y entusiasmo de todos los profesionales de la Microbiología involucrados. El recibir datos y no bacterias hace difícil la comprobación de algunos reportes novedosos, que pudieran estar surgiendo pero que necesitan confirmación, como es la situación de resistencia de *Haemophilus influenzae* tipo b a las cefalosporinas de tercera generación o la posibilidad de *Staphylococcus aureus* resistente a glicopéptidos. Es compromiso esencial de los coordinadores el garantizar que en todos los laboratorios de la Red se apliquen normas de control de calidad, tanto internas como externas. Recientemente se llegó a una alianza estratégica con la Sección de

Bacteriología del Instituto Nacional de Higiene para instrumentar estas actividades Antimicrobianas en 13 Hospitales de Venezuela (33,34).

En el Perú, existen reportes locales sobre el avance de la resistencia a los antibacterianos en varios hospitales y clínicas en Lima y Arequipa además el país ha participado en redes de vigilancia de la OPS junto a otros países de Latinoamérica, pero no hay una adecuada difusión del problema al personal de los establecimientos de salud y a la comunidad en general (39).

Con el propósito de conocer el patrón antibiótico de las diferentes cepas de estafilococos, se revisaron los informes de cultivos y respectivos antibiogramas existentes en el archivo del laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios de Guatemala; correspondientes a los años de 1992 a 1995. Se recopilaron 1972 cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativos. Los resultados demuestran que el patrón de resistencia antibiótica para las diferentes cepas de estafilococos se mantuvo constante, sin encontrar aumentos o reducciones que demuestren cambios significativos en la sensibilidad antimicrobiana (8,12).

En el año 2000 se realizó un estudio para establecer los factores asociados con las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes (MRSA) en el Hospital General San Juan de Dios y se encontró una frecuencia de MRSA cercana al 55% de todos los aislamientos (8,9,11,12,42)

En el Hospital de La Habana, Cuba; se caracterizaron 50 cepas circulantes de *Staphylococcus aureus* de origen clínico por su drogosensibilidad frente a 15 antimicrobianos mediante el método de difusión radial en medio Mueller Hinton. Además se determinó la producción de la enzima beta lactamasa por los métodos acidimétrico y cromogénico, así como la presencia de cepas meticilina-resistentes. Se determinó que 32 % de las cepas era sensible frente a todos los antimicrobianos probados. Los más efectivos fueron imipenem, norfloxacin y amikacina para 98, 96 y 92 % de sensibilidad; así como la existencia de 27 patrones diferentes de drogorresistencia en las cepas estudiadas. De ellas,

22 % era productor de beta lactamasa, y de estas últimas, 27 % resultó meticilina resistente (25,33,34).

Se buscaron marcadores de resistencia a 20 antibióticos y se emplearon en la caracterización de cepas de *S. aureus* de origen clínico y diverso. Se analizaron 69 cepas, 46 de muestras clínicas y 23 de origen diferente a éste. La resistencia a los antibióticos se realizó por la técnica de difusión en agar de antimicrobianos en discos de papel filtro; además, para 7 de los antibióticos se hizo por el método de inclusión en agar. El grupo de cepas de origen clínico presentó un número mayor de marcadores, siendo las características de resistencia a la ampicilina y penicilina muy común en éstas; asimismo, la tipificación de 12 de estas cepas que son productoras de la toxina exfoliativa y que fueron aisladas del mismo nosocomio como causa de un brote intrahospitalario, reveló la presentación de perfiles de resistencia diferentes. Es factible que por medio de la detección de marcadores de resistencia se puede diferenciar la naturaleza de cepas de *S. aureus* de origen clínico; aunque para considerar la utilidad epidemiológica del procedimiento se requiere que las cepas en estudio presenten una resistencia a antibióticos que vaya más allá de los marcadores ampicilina y penicilina, además de que se debe tener en cuenta que durante un brote intrahospitalario se puede dar el surgimiento de patrones de resistencia diferentes entre cepas que tienen una estrecha relación epidemiológica (43).

Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) o resistentes a oxacilina (ORSA), muestran resistencia a todos los derivados betalactámicos mencionados. Las primeras cepas de MRSA se describieron a principios de los años 60 pero no fue hasta fines de la década de los 70 y en los 80 cuando empezaron a causar serios problemas infecciosos entre los que sobresalen piodermatitis, infección de heridas quirúrgicas y síndrome de choque tóxico. Hasta hace poco, el uso de vancomicina y la vigilancia epidemiológica estricta habían mantenido al estafilococo bajo control, sin embargo, recientes estudios en Japón, coordinados por el grupo del bacteriólogo Keichi Hiramatsu, de la Universidad de Juntendo, en Tokio, han permitido identificar una cepa de *S. aureus* (denominada Mu50) resistente a vancomicina (9,18,22).

Su mecanismo de resistencia consiste en repeler la acción de la droga sobre la pared bacteriana al formar un escudo protector de lipopolisacáridos. Luego de este descubrimiento se han aislado más de 100 cepas semejantes, en otros centros hospitalarios japoneses (20,44).

Recientemente fueron publicados los datos del programa multinacional de vigilancia (SENTRY), donde se informan frecuencias de aislamientos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en Estados Unidos (26%), Canadá (3%), Europa (24%) y América Latina (50%) (35).

Los resultados descritos para los aislados cubanos, *Staphylococcus aureus* (22%) y *Staphylococcus coagulasa* negativo (42%), aún no alcanzan los niveles declarados para estas cepas, lo que no constituye un serio problema hoy en ese país, pero alerta acerca de su existencia y de la importancia de la vigilancia, pues los cambios de frecuencia pueden presentarse y llegar a convertirse en un serio problema de salud.

Los resultados obtenidos son el reflejo de la disponibilidad y uso de antibióticos betalactámicos de amplio espectro en los hospitales ya que estos son bastante limitados, ejerciendo un verdadero control en la aparición de resistencia en estos organismos (45,46).

La mayoría de las cepas de MRSA son resistentes a una amplia gama de agentes antimicrobianos dejando como única alternativa terapéutica a los glicopéptidos. Desde un inicio se pensó en la posibilidad de aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a la vancomicina ya que existían evidencias in vitro del traspaso de esta resistencia de enterococos a estafilococos (46).

La vancomicina fue introducida en Cuba en la década de 1990 e inmediatamente incluida en el grupo de antibióticos controlados dentro de la política del sistema nacional de salud. Es de gran importancia informar a los médicos acerca de los riesgos e implicaciones del uso indiscriminado de esta droga (39,47).

Las diferencias en cuanto al porcentaje de incidencia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente para cada hospital, siendo el Pediátrico de Marianao de Cuba, el que aporta mayores índices de resistencia y en su totalidad mediados por el mecanismo de producción de PBP2A. En este mismo hospital se observan valores elevados de resistencia a eritromina, así como el mayor porcentaje de cepas portadoras de fenotipo inducible para macrólidos, lincosamidas y estreptograminas. En el pediátrico de 10 de Octubre se observa una incidencia pobre de resistencia a la clindamicina y un bajo porcentaje de cepas portadoras del fenotipo inducible para MLS, lo que indica la prevalencia en estas cepas de un fenotipo constitutivo. La resistencia a la penicilina es elevada en todos los hospitales analizados, así como la producción de beta- lactamasas. Los resultados encontrados para los antibióticos macrólidos son significativos desde el punto de vista clínico. La resistencia a este grupo de antibióticos puede ser inducible o constitutiva y el fenotipo inducible implica resistencia a todos los antibióticos macrólidos lincosamidas y estreptograminas, elemento que se debe tener en cuenta en el momento de administrar la terapia antimicrobiana ya que pueden ocurrir fallas terapéuticas (45,46).

En todos los hospitales ensayados se observa que el mecanismo de resistencia que prevalece es el de PBP 2A. La resistencia a penicilina se encuentra elevada al igual que en los hospitales pediátricos. Es de destacar la alta incidencia de resistencia a la eritromicina y a la clindamicina, con un porcentaje elevado para todos los casos de fenotipo inducible de resistencia para esta familia de antibióticos (48,49).

El MRSA es una causa común de infecciones nosocomiales. Su incidencia en los hospitales refleja la efectividad, en la práctica, de los programas de control de infecciones. Estas cepas, aun cuando reemplazan a las cepas susceptibles, incrementan la proporción de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus*. (17,45).

Las mismas causan además sustanciales índices de morbilidad y mortalidad, y en caso de infecciones severas por MRSA, resulta necesario utilizar vancomicina (45,46).

Consecuentemente, los hospitales con altos índices de MRSA presentan mayor uso de este agente antimicrobiano lo que incrementa el riesgo de seleccionar enterococos vancomicina-resistentes o estafilococos vancomicina-resistentes. Este fenómeno condiciona el desarrollo de programas por parte de los profesionales de la salud para evitar la transmisión de estos organismos dentro de las instituciones. El procesamiento de los datos se llevó a cabo mediante un programa diseñado en Borland Delphin que trabaja con una base de datos en Access, la cual es interrogada utilizando las SQL. El programa fue diseñado en los laboratorios DIRAMIC, Cuba (45,46,50).

La descripción de resistencia de aislamientos de *S. aureus* a diversas familias de antimicrobianos ha sido una constante desde el desarrollo de la moderna quimioterapia antimicrobiana; así después de la introducción de penicilina, rápidamente se comprobó resistencia mediada por una penicilinasa (hallazgo prácticamente universal en las cepas de *S. aureus*); posteriormente y pese al desarrollo de las penicilinas antiestafilocócicas, la descripción de cepas resistentes a cloxacilina complicó su tratamiento, asociado al rápido desarrollo de resistencia a otras familias de antimicrobianos, entre otros aminoglucósidos, aminociclitoles y quinolonas. Finalmente en la década de los noventa se describieron cepas con susceptibilidad disminuida a glicopéptidos (cepas VISA o GISA). Resulta altamente sugerente que ya se había reportado *in vitro* la transferencia genes de resistencia desde una cepa de *E. faecalis* a un aislamiento de *S. aureus* (50).

IV. JUSTIFICACION

La resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos es un problema mundial de salud pública generado en los últimos 50 años, debido principalmente al uso inapropiado de los antibióticos; esto favorece la multiplicación de microorganismos resistentes, haciendo más difícil el tratamiento de las infecciones que causan. Las consecuencias negativas se ven tanto en términos de salud como en el costo económico.

Los mecanismos de resistencia, a través de los cuales los microorganismos se defienden frente a los antimicrobianos son tan diversos y por ello, la aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina, ha ocasionado brotes de infecciones nosocomiales en varios países, y al mismo tiempo causado una gran preocupación y necesidad de detener este fenómeno que crece día a día.

Para controlar la resistencia a los antibióticos del *Staphylococcus aureus*, se debe entender cómo prevenir la diseminación de la resistencia y cómo reducir los factores que propagan la supervivencia de éstas cepas. Además es necesario, conocer la susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* existentes en las distintas salas del Hospital General San Juan de Dios, con una vigilancia de resistencia antimicrobiana, para luego proponer medidas sobre el uso racional de los antimicrobianos y controlar así el desarrollo de la resistencia no sólo a nivel intrahospitalario, sino a nivel nacional.

V. OBJETIVOS

General:

- Determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en los cultivos de muestras biológicas, recolectadas en el Hospital General San Juan de Dios, en un período de seis meses.

Específicos:

- Estudiar la variación de resistencia a los antimicrobianos del *Staphylococcus aureus* en un período de seis meses en el Hospital General San Juan de Dios.
- Detectar mecanismos de resistencia específicos como MLS y resistencia acompañante de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de Trabajo

1. Universo de trabajo: Muestras de pacientes que son referidas al Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.
2. Muestra: cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes que asisten al Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.

B. Medios

1. Recursos Humanos

Autor: Jeniffer Paz Teyul

Asesores: Lic. Jorge Matheu y Licda. Tamara Velásquez.

Personal profesional y técnico del Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios y del Laboratorio Nacional de Salud.

2. Recursos Materiales

a) Equipo

- i. Incubadora
- ii. Balanza semi-analítica
- iii. Refrigeradora
- iv. Incinerador
- v. Campana de Flujo Laminar
- vi. Impresora
- vii. Computadora
- viii. Estufa
- ix. Programa de Whonet

b) Materiales

- i. Guantes desechables
- ii. Asas en Argolla
- iii. Cajas de Petri de plástico descartable de 100x15mm.
- iv. Tubos de ensayo con rosca
- v. Erlenmeyer de 250ml, 500 ml y 1000ml
- vi. Probeta de 10ml, 100ml, 500ml
- vii. Hisopos estériles
- viii. Papel pH
- ix. Papel Mayordomo
- x. Papel bond tamaño carta
- xi. Tablas de estandarización e interpretación de resistencia a antibióticos de (NCCLS)

c) Reactivos

- i. Estándar de turbidez Mc Farland 0.5
- ii. Agar Muller-Hinton
- iii. Agar Manitol-Sal
- iv. Caldo o Agar Trypticase Soya
- v. Solución Salina
- vi. H₂ O₂ al 30 %
- vii. Plasma para prueba de coagulasa
- viii. Discos de antibióticos de eritromicina, clindamicina, cloranfenicol, gentamicina, penicilina G, rifampicina, ofloxacina, oxacilina, tetraciclina, trimetoprim sulfametoxazol, vancomicina.

C. Procedimiento para la realización del test de difusión por disco:

1. Obtención de las cepas: Se tomaron las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de las muestras que llegaron al Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios, que fueron identificadas con el sistema Microscan, seguidamente se

colocó una asada de la colonia de *S. aureus* en agar tripticasa soya, se incubó por 24 horas a 35-37°C, y se preservaron los tubos por 30 días, a temperatura ambiente.

2. Transporte de las cepas: Se hizo por medio de las tres barreras de protección recomendadas por la IATA (International Air Transport Association).
3. Preparación y estandarización del inóculo: Del tubo de tripticasa soya se hizo una resiembra en agar Müller-Hinton o agar tripticasa soya, se incubó por 24 horas a 36°C y luego de un desarrollo previo se seleccionaron 4 o 5 colonias bien aisladas de igual morfología, se inocularon en 4 o 5 ml de caldo tripticasa soya, hasta que alcanzara la turbidez del estándar de Mc Farland 0.5 por comparación visual.
4. Inoculación de las placas: Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo, se sembraron las placas de Mueller-Hinton que contenían 20 ml de agar, con un hisopo estéril; presionando el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de inóculo e inocular inmediatamente en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo.
5. Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas: Se colocaron los discos sobre la superficie del agar inoculado con pinza estéril aplicando una ligera presión a una distancia de 2 cm entre uno y otro disco.
6. Incubación: Se incubaron las placas invertidas a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a que los discos fueron aplicados.
7. Lectura de las placas e interpretación de resultados: Después de 24 horas de incubación se examinó cada placa y se midieron los diámetros de inhibición. Los tamaños de las zonas de inhibición fueron interpretados con las Tablas 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G, 2H, 2I y los organismos se informaron sensibles, intermedios o resistentes frente al antimicrobiano ensayado, según NCCLS (46).

D. Diseño de Investigación

El tipo de estudio es descriptivo.

Población: todos los pacientes que acudieron al Laboratorio Microbiológico Hospital General San Juan de Dios.

Tamaño de muestra: 200 aislamientos de *Staphylococcus aureus*, previamente identificados y confirmados, en un período de seis meses.

El análisis de datos se hizo por medio del programa de WHONET, el cual realiza un análisis por medio de porcentajes y correlaciones de la información de resistencia antimicrobiana.

VII. RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa el número de aislamientos de *S. aureus* en los diferentes servicios del Hospital General San Juan de Dios (HGSJD), de los cuales el 29% provenían de los servicios de Cirugía; el 23% de Medicina; el 13% de Emergencia; 12% de Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatos (UCIN) y otros servicios; un 8% del servicio de Pediatría y por último un 3% de Consulta Externa de Adultos (pacientes ambulatorios).

Tabla 1. Aislamientos de *S. aureus* en los diferentes servicios del Hospital General San Juan de Dios (N=200)

SERVICIO	No. DE AISLAMIENTOS		PORCENTAJE (%)
	n		
Cirugía	58		29
Medicina	46		23
Emergencia	26		13
UCIN*	25		12
Otros	23		12
Pediatría	16		8
Ambulatorios**	6		3

Fuente: Datos experimentales

* UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatos

**Ambulatorios: Consulta Externa de adultos

Las muestras de donde se aislaron las cepas de *S. aureus* con mayor frecuencia, fueron las secreciones varias con un 35%; seguida de los catéteres y heridas quirúrgicas; el resto de la distribución de las diferentes localizaciones anatómicas se puede ver en forma detallada en la Tabla 2.

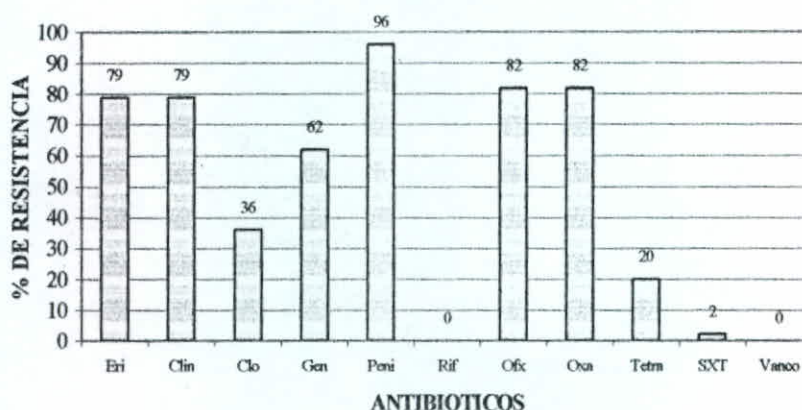
Tabla 2. Distribución de *S. aureus* por localización anatómica de las muestras aisladas del Hospital General San Juan de Dios (N=200).

MUESTRA	No. DE AISLAMIENTOS	PORCENTAJE
	n	(%)
Secreciones (varias)	70	35
Catéter	38	19
Herida Quirúrgica	28	14
Pie	18	9
Traqueal	10	5
Sangre	8	4
Herida	6	3
Faringe	6	3
Brazo	4	2
Boca	4	2
Absceso	4	2
Ulcera externa	4	2

Fuente: Datos experimentales.

La Gráfica 3 muestra el patrón de resistencia global de *S. aureus*, y se puede ver que el 96% de las cepas fueron resistentes a penicilina, el 82% fueron oxacilino-resistentes (MRSA), 79% a clindamicina y eritromicina.

Gráfica 3. Resistencia Global de *Staphylococcus aureus* aislado del Hospital General Juan de Dios (N=200).



Como se observa en la Tabla 4, se encontraron varios perfiles de resistencia en las cepas de *S. aureus* aisladas en el HGSJD, el más frecuente fue E-C-Clo-G-P-Of con un 35%, luego el E-C-G-P-Of con 32% y por último se observaron los perfiles que fueron E-C-P-Of y P con 10% cada uno; en éstos perfiles no se incluye el antibiótico oxacilina, porque el 82% de todas las cepas fueron MRSA.

Tabla 4. Perfil de Resistencia de *S. aureus* aislado del HGSJD, durante febrero a julio del 2004, (N=200).

ANTIBIOTICOS	% DE RESISTENCIA
	n
E - C - CLO - G - P - Of *	35
E - C - G - P - Of	32
E - C - P - Of	10
P	10
E - P	3
P - Of	3
E - P - Of	1
E	1
E - G - P	1
E - C - G - P - Of	1
E - C - CLO - P - Of	1

Fuente: Datos experimentales.

* E: eritromicina, C: clindamicina, Clo: cloranfenicol, G: gentamicina, P: penicilina, Of: ofloxacina.

En la Tabla 5 se observa que la resistencia a la penicilina fue del 100% en todos los servicios, a excepción de los servicios de Cirugía y Emergencia, de los cuales el número de aislamientos fue de 58 y 26 (95 y 80% respectivamente). La resistencia a oxacilina fue alta en todos los servicios, se dió una excepción en Pediatría que fue del 50%, éste es el único servicio con menor resistencia a la mayoría de antibióticos utilizados en el estudio. Además se observó que las cepas de *S. aureus* no presentaron resistencia hacia los antibióticos rifampicina y vancomicina. Unicamente el 6% de todos los aislamientos presentó resistencia hacia el trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) y se dio en el servicio de Cirugía.

Tabla 5. Resistencia antimicrobiana de *S. aureus* en los servicios del Hospital General San Juan de Dios (N=200).

ANTIBIOTICO	SERVICIOS / % DE RESISTENCIA						
	EMER * n=26	UCIN ♦ n= 25	MEDICINA n= 46	PEDIATRIA n= 16	CIRUGIA n= 58	AMBU • n= 6	OTROS n= 23
Eritromicina	60	90	78	33	91	100	89
Clindamicina	60	90	72	50	86	100	78
Cloranfenicol	30	50	33	17	45	50	22
Gentamicina	60	60	61	50	64	50	78
Penicilina G	80	100	100	100	95	100	100
Rifampicina	0	0	0	0	0	0	0
Ofloxacina	60	90	83	50	91	100	89
Oxacilina	80	80	89	50	82	100	89
Tetraciclina	20	20	22	33	18	0	11
SXT **	0	0	0	0	6	0	0
Vancomicina	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Datos experimentales

* EMER: emergencia, ♦UCIN: unidad de cuidados intensivos neonatos

• AMBU: pacientes ambulatorios, ** SXT: Trimetoprim/sulfametoxazol

En la Tabla 6 se observa que de las 200 cepas de *S. aureus*, 166 (83%) resultaron ser oxacilino-resistentes (MRSA); de éstas cepas se detalla la resistencia que presentaron a los antibióticos, las cuales mantuvieron un patrón de resistencia alto hacia penicilina 98%, ofloxacina 95%, eritromicina y clindamicina en un 89%.

Tabla 6. Resistencia acompañante de las cepas de *S.aureus* Oxacilino-Resistentes (MRSA), (N=166).

ANTIBIOTICO	% RESISTENCIA	
	n	
Eritromicina	89	
Clindamicina	89	
Cloranfenicol	44	
Gentamicina	76	
Penicilina G	98	
Rifampicina	0	
Ofloxacina	95	
Oxacilina	100	
Tetraciclina	16	
Trimetoprim/sulfametoxazol	2	
Vancomicina	0	

Fuente: Datos experimentales.

En la Tabla 7 se observa que de las 200 muestras analizadas de *S. aureus* 8 (4%) presentaron el mecanismo de resistencia MLS (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas). La resistencia a los antibióticos eritromicina y clindamicina, refleja un mecanismo inducible, en el cual la eritromicina era resistente y la clindamicina era susceptible, interpretándose finalmente como resistente para ambos antibióticos.

Tabla 7. Resistencia acompañante de las cepas de *S. aureus* que presentaron el mecanismo de resistencia MLS (N=8).

ANTIBIOTICO	% DE RESISTENCIA	
	n	
Eritromicina	100	
Clindamicina	100	
Cloranfenicol	0	
Gentamicina	0	
Penicilina G	100	
Rifampicina	0	
Ofloxacina	33	
Oxacilina	33	
Tetraciclina	33	
Trimetoprim/sulfametoxazol	50	
Vancomicina	0	

Fuente: Datos Experimentales.

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Staphylococcus aureus es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones nosocomiales y comunitarias. Presenta una patogenicidad variable que le permite causar desde infecciones sin importancia clínica hasta infecciones con compromiso vital (endocarditis, septicemia) (55).

Los servicios con mayor porcentaje de aislamientos de *S. aureus* fueron los de Cirugía, Medicina y Emergencia (29, 23 y 13%, respectivamente). Estos resultados fueron parecidos a los reportados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el Informe Ateneo General, en el que se informó que de 110 aislamientos, el 33% fue de servicios quirúrgicos, 11% medicina y únicamente varía en el porcentaje de la emergencia, que en éste fue más alto con un 37% de enero a mayo del 2004 (57).

El servicio de Consulta Externa de Adultos (Ambulatorio) fue el que presentó el menor porcentaje de aislamientos de *S. aureus*; posiblemente se deba a que pocos son los pacientes ambulatorios que consultan al médico por una pequeña lesión, y hasta que no son ingresados al hospital se percatan de la gravedad del problema. Mientras tanto la resistencia del microorganismo va aumentando cada vez más, por la automedicación. El reflejo de lo mencionado anteriormente en dicho servicio, es la resistencia del 100% hacia la Clindamicina, Eritromicina, Penicilina y Oxacilina.

En el servicio de Pediatría, se observó un porcentaje bajo (8%) de aislamientos. Otro servicio en el que se reportó un porcentaje relativamente bajo de aislamientos fue el de Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatos (UCIN) con un 12%. Resultó un poco contradictorio que en éstos dos servicios se presentaran bajos porcentajes de aislamientos, ya que éstas poblaciones, reconocidas por ser más susceptibles a cualquier infección y que la dosis infectante varía con la edad. Pues en los neonatos y niños dicha dosis es menor que para los adultos. Posiblemente se debe a que en éstos servicios existe una vigilancia

epidemiológica que hace que estén mayormente controlados, para poder disminuir el número de infecciones por *S. aureus*.

En la tabla 2 se observó que las muestras aisladas con mayor frecuencia fueron las secreciones varias, catéteres y heridas quirúrgicas con 35, 19 y 14%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con la literatura, ya que la aplicación de catéteres intravenosos, suturas e implementos médicos expuestos al ambiente fueron condiciones favorables en la implantación e infección por estafilococos en hospitales de otros países (1,2). Al igual que dentro del HGSJD, pues los servicios donde se utilizan con mayor frecuencia los implementos médicos fueron los de Cirugía, Medicina y Emergencia y fue de éstos, de donde se aislaron en mayor cantidad las muestras de *S. aureus*.

El origen de la cepa de *S. aureus* no se puede definir como nosocomial o comunitario, ya que para ello se debe evaluar la historia médica antes de la infección o después de 48 horas de la admisión al hospital, presencia de catéteres a permanencia (57). En éste caso no se cuenta con el historial médico de los pacientes para saber si ya habían sido internados anteriormente, pues no se incluyeron en el análisis.

El 82% de las cepas de *S. aureus* fueron resistentes a oxacilina (MRSA), resultado que concuerda con la literatura, ya que si existe resistencia a oxacilina, existirá una multirresistencia al resto de beta-lactámicos (penicilina, imipenem, etc). Se observó que el 96% de las cepas fueron resistentes a la penicilina G, pues desde años atrás los microorganismos han venido desarrollando resistencia a éste antibiótico. Comparando con la variabilidad en otros países, el porcentaje de resistencia a oxacilina en el HGSJD, se encontró alto. Pues según el último estudio VIRA¹, actualmente la prevalencia se sitúa en 24.3% en España; 83% en Japón y Brasil. Mientras que Cuba no se escapa de éste fenómeno, pero el índice es inferior al de Europa y el resto de América (55,56). El porcentaje de resistencia a clindamicina y eritromicina fue del 79% para ambos. Muy

¹ VIRA= Vigilancia de Resistencia a Antibióticos.

similar al reportado por VIRA y el programa multinacional de vigilancia SENTRY² en los últimos años en Europa, ya que los sitúan en un 80 y 76% respectivamente (55).

En 35 % de los casos el perfil de resistencia fue de E-C-CLO-G-P-Of (Eritromicina, Clindamicina, Cloranfenicol, Gentamicina, Penicilina, Ofloxacin). En éste se observó una multiresistencia, ya que encierra a distintas familias de antibióticos, entre las cuales se encuentran macrólidos, lincosamidas, fenicoles, aminoglucósidos, beta-lactámicos y quinolonas. Los perfiles de E-C-G-P-Of (Eritromicina, Clindamicina, Gentamicina, Penicilina, Ofloxacin) con 32%, E-C-P-Of (Eritromicina, Clindamicina, Penicilina, Ofloxacin) con 10%, son similares al primero pues fueron multiresistentes, claro que con algunas variantes. Únicamente el 10 % de las cepas de *S. aureus* presentó resistencia un sólo beta-lactámico (Penicilina). Este comportamiento es difícil de observar, ya que en su mayoría las cepas presentaron diferentes perfiles de multiresistencia hacia los diferentes antibióticos. Pero no hay que olvidar que realmente el 96% de las cepas fue resistente a la penicilina en los diferentes perfiles de resistencia. Es muy importante conocer los diferentes perfiles de resistencia presentes en el HGSJD, porque se utilizarían para seguir un protocolo en el uso y medicación de los antibióticos.

En cuanto a la resistencia antimicrobiana por servicio, casi todos los servicios presentaron un 100% de resistencia a penicilina, exceptuando los servicios de Cirugía y Emergencia. En el servicio de Pediatría se observó una baja resistencia a todos los antibióticos, por lo que se debe tomar en cuenta para controlar que no se desarrollen resistencias altas en una población muy susceptible a cualquier infección. La transmisión de *S. aureus* en áreas como la Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatos (UCIN), pacientes intubados, el porcentaje de infección aumentó, ya que son sometidos a punciones frecuentes al administrarles drogas por vía parenteral o hemodiálisis, esto se ve reflejado en el alto porcentaje de cepas de *S. aureus* meticilino-resistentes (MRSA) en todos los servicios (58). El 100% de las cepas fueron susceptibles a vancomicina, y rifampicina en todos los servicios, únicamente en el servicio de Cirugía se encontró una resistencia del 6% a SXT (trimetoprim-sulfametoxazol). A pesar de la susceptibilidad a la rifampicina no se

² SENTRY= Programa Multinacional de Vigilancia.

recomienda como antibioterapia, ya que podría desarrollar resistencia a enterobacterias (57). Por el contrario el SXT puede ser la mejor opción de terapia antimicrobiana para *S. aureus* porque la mayoría de cepas fueron susceptibles a éste y por ser un antibiótico bactericida. Esto no significa que no se desarrolle resistencia al SXT, ya que es una bacteria muy versátil que desarrolla resistencia rápidamente, pero actualmente todavía es susceptible (10,12,57).

Es importante destacar que la MRSA implica resistencia a todos los antibióticos beta-lactámicos: penicilinas sensibles a beta-lactamasas (bencilpenicilina, ampicilina, amoxicilina), a penicilinas antiestafilococcicas resistentes a beta-lactamasas (metecilina, oxacilina, cloxacilina), a combinaciones con inhibidores beta-lactámicos (ampicilina sulbactam, amoxicilina-clavulánico; piperacilina, tazobactam), a carbapenemes (imipenem, meropenem) (57,58). Por esta razón se debe tener presente que cuando se detecta una cepa resistente a oxacilina (MRSA), ninguna otra penicilina será eficaz para el tratamiento de este microorganismo, independientemente que muestren sensibilidad *in vitro* dentro del laboratorio (58). De las cepas de *S. aureus* se obtuvo que un 82% fueron meticilino-resistentes MRSA. En la resistencia acompañante de éstas cepas se observó que el 98% fueron resistentes a penicilina, el 95% a ofloxacina y el 89% a eritromicina y clindamicina. Comparando éstos resultados con otro estudio realizado en el HGSJD durante el año 2000 se pudo ver que la frecuencia de éstas cepas se incrementó; ya que en dicho año se reportó un 55% de MRSA (42). Es alarmante la cifra encontrada actualmente, porque por la misma versatilidad de la bacteria se presume que en poco tiempo podrían presentarse cepas de *S. aureus* con perfiles de resistencia no definidos. Entre los cuales se podrían encontrar con susceptibilidad disminuida a vancomicina (VISA), el cual es el único glucopéptido que se podría usar como tratamiento, debido a la multiresistencia existente de las cepas. En todos los servicios se observó una resistencia alta, exceptuando pediatría. Se pone énfasis en éste servicio, porque es el más susceptible a infecciones, y porque además en hospitales de otros países como Cuba se reportan los índices de resistencia mayores en éste servicio(56). Por lo anterior, es indispensable seguir monitoreando éste servicio para evitar que se dé una resistencia alta en éste.

El mecanismo de resistencia frente a macrólidos se reconoce como MLS (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas) en el que se incluyen los antibióticos eritromicina y clindamicina. Este es originado por la producción de la enzima metilasa, que causa un cambio en la conformación del sitio blanco, reduciendo la unión del antibiótico a la subunidad 50S del ribosoma (38.54). De las cepas aisladas únicamente el 4% presentó el mecanismo anteriormente mencionado. El 100% de éstas cepas presentó resistencia a eritromicina y una susceptibilidad del 100% a la clindamicina. Lo que demostró que el mecanismo de resistencia encontrado fue iMLS (inducible), reflejado en la ausencia del halo de inhibición frente a la eritromicina y un achatamiento en el halo de la clindamicina, por acción de la metilasa, y que se interpretó como resistente para ambos antibióticos. Además no se observaron resultados de una resistencia intermedia, ya que las resistencias presentes fueron puras (54). Es importante la detección de éste mecanismo de resistencia dentro del laboratorio, ya que es sencillo de realizar. Pues el número de casos reportados en los hospitales fue mínimo o nulo y lo que podría estar pasando, sería que al no saber identificarlo, se estén dando susceptibilidades erróneas respecto a los antibióticos implicados en dicho mecanismo. Posiblemente por ello se cuestiona la efectividad de la clindamicina como tratamiento antimicrobiano, pero se advierte sobre el riesgo de cepas sensibles a clindamicina y resistentes a eritromicina por la posibilidad de resistencia inducible durante el tratamiento y una posterior falla terapéutica (55).

Estos resultados representan una alerta tanto para las autoridades hospitalarias y para el Ministerio de Salud Pública en cuanto a la circulación de las cepas MRSA en todo el país y, dada la rápida diseminación intrínseca de las mismas, así como el gran potencial de derivación a cepas con perfiles de multirresistencia no definidos o bien VISA (*Staphylococcus* susceptibilidad disminuida a vancomicina). Esto podría repercutir en una alta tasa de mortalidad, de ahí la importancia de la vigilancia epidemiológica no sólo en los hospitales de la ciudad capital sino en el interior del país. Junto al comité de nosocomiales se puede evaluar y determinar el origen de la multirresistencia de *S. aureus*. Al elegir el mejor tratamiento, ya que al momento de medicar los antibióticos se deben de tomar en cuenta varios factores: como la naturaleza de la infección, farmacocinética y farmacodinámica de la droga. Al mismo tiempo el tipo de microorganismo, y el patrón de

susceptibilidad a los antimicrobianos. En éste estudio se demostró que una buena opción sería el SXT (Trimetoprim/sulfametoxazol), pero se hace indispensable conocer los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cada hospital, debido a lo versátil que es el *Staphylococcus aureus* para desarrollar una rápida resistencia a los antibióticos(33).

IX. CONCLUSIONES

1. Todas las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas del Hospital General San Juan de Dios presentaron un patrón similar de multirresistencia antimicrobiana entre ellas.
2. Cirugía, Medicina y Emergencia fueron los servicios que presentaron mayor porcentaje de aislamientos de *S. aureus*, por lo que en éstos servicios existe mayor riesgo de contraer una infección de MRSA.
3. En los servicios de Pediatría y UCIN existe una mayor vigilancia epidemiológica, pues en éstos servicios se aisló en menor porcentaje las cepas de *S. aureus*.
4. El origen de las cepas de *S. aureus* no se pudo definir entre nosocomial o comunitario, pues no se conoce el historial médico de los pacientes.
5. El SXT resultó ser en éste estudio el mejor antimicrobiano, al que se puede recurrir como antibioterapia, pues únicamente el 6% de todos los aislamientos presentó resistencia a éste.
6. Cirugía, Medicina y Emergencia fueron los servicios que presentaron mayor porcentaje de aislamientos de *S. aureus*, por lo que en éstos servicios existe mayor riesgo de contraer una infección de MRSA.

X. RECOMENDACIONES

1. El Comité de Infecciones Nosocomiales debería continuar con la Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, para proponer medidas a nivel hospitalario que eviten que ésta cepa se convierta en poco tiempo en un patógeno nosocomial en éste Hospital.
2. Que el Comité de Infecciones Nosocomiales con el apoyo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social continúe monitoreando las cepas MRSA y las que presentan mecanismo MLS, pues existe una necesidad de extender la vigilancia epidemiológica en el resto del país.
3. Dar a conocer al personal de salud y a la comunidad en general, mediante conferencias y trífolios, las implicancias que conlleva el uso inadecuado de los antimicrobianos, ya que cada vez aumenta el número de cepas multirresistentes.
4. Evitar la automedicación de antibióticos y educar a los pacientes para que cumplan con el tratamiento antimicrobiano en la dosis y tiempo establecidos para un buen funcionamiento.
5. Para evitar la propagación de la cepa de origen nosocomial, promover dentro del personal del HGSJD una higiene necesaria como el uso de guantes, lavado de manos antes y luego de atender al paciente, desinfección y esterilización correcta de los utensilios quirúrgicos.
6. Que el uso de antibióticos se base en los resultados obtenidos en el antibiograma y si se inicia un tratamiento empírico que éste se ajuste inmediatamente al microorganismo aislado y a su respectiva sensibilidad antimicrobiana.

7. Ampliar el número de estudios sobre resistencia antimicrobiana en nuestro país, ya que existe muy poca información sobre este problema.

8. Que el Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital General San Juan de Dios utilice la información que se obtuvo en la presente investigación, para establecer el protocolo de uso adecuado de antibióticos a nivel local o intrahospitalario.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Hi Kim Kyung , *et al.* Perfiles de Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativo, aislados de Hospitales de Clinicas Asunción , Paraguay. 1997. Disponible en:
[http:// www.una.py/medicina/microbiologia/revistaparaguayademicrobiologia](http://www.una.py/medicina/microbiologia/revistaparaguayademicrobiologia). Agosto 15 2003
2. Izaguirre García, Vivian Marlene. Patrón de Resistencia Antimicrobiana de las diferentes cepas de estafilococo. Guatemala. Disponible en:
<http://www.FMUSAC-patronderesistenciaantimicrobiana.htm>. Agosto 15 2003
3. Reporte de Resistencia Antimicrobiana de la Unidad de Salud Navarra. Sep1999. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/biblio/bsuple7.html>. Agosto 10 2003
4. Estudio de la Resistencia a los Antibacterianos en el Centro Médico Naval de Enero a Diciembre del 2000. Avellaneda Mariscal, Jessica M. Tesis UNMSN. 2000.
5. Cockerill, F.R. Symposium on Antimicrobial Agents: Conventional and Genetic Laboratory Test used to Guide Antimicrobial Therapy. Mayo 1998. 79:1007.
6. Malagón G. Hernández. Infecciones Hospitalarias. 1ª ed. Colombia: Editorial Médica Panamericana, 1995, p 985.
7. Mims, *et al.* Microbiología Médica. 2ª ed. España: Editorial Harcourt Brace, 1999. p375, 415.
8. Wesley A. Volk. Microbiología Básica. 7ª ed. México: Harla, 1992, p 644- 647.
9. Schaechter, M, *et al.* Microbiología: Muestras de las Enfermedades Infecciosas.

- 2ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1994, p 242-244.
10. Carrasco del Amo, M. Encarnación. "Cefalosporinas de Segunda y Tercera Generación". Junio 1994; 2:3. Disponible en:
[http:// www.Bit-junio1994\(vol_2num3.htm](http://www.Bit-junio1994(vol_2num3.htm) Julio 16 2003.
 11. Brumfitt W. Hamilton-Miller, J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. S. Eng J. Médica , 1989. 320: 1188-1196.
 12. Raad, H. Sabbagh, MF. Optimal Duration of Therapy Catheter- Related *Staphylococcus aureus*, Bacteremia, a Study of 55 cases and Review. Clind Infection Disease, 14:75-82.
 13. D.Lowy Franklin. Science in Medicine. "Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*". 2003;111:1265. Disponible en:
[http:// www.JCI.lowy111\(9\)1265.htm](http://www.JCI.lowy111(9)1265.htm) Enero 12 2004
 14. Cornejo Giraldo Mario P. "La Selección del Antibiótico" , Instituto Peruano del Seguro Social. Disponible en: [http:// www.larevistalaseleccióndelantibiótico.htm](http://www.larevistalaseleccióndelantibiótico.htm) Enero 10 2004
 15. Bergolio R.M. Antibióticos. 5ª ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1993.
 16. Bartlett J.G. Pockel Book of Infections Disease Therapy. Baltimore,1991, p1822.
 17. Medicina para el Médico del Siglo XXI. "Principios en el Control de la Resistencia Bacteriana". Agosto 1997. Disponible en: [http:// www.infectologia.agosto1997.htm](http://www.infectologia.agosto1997.htm) Enero 12 2004
 18. Antimicrobial Resistance. American Journal of Medicine. Julio , 1997;103:51-58

19. Reporte Técnico de Vigilancia. Mayo 1998;3:4. Disponible en:
<http://www.resistenciaantimicrobiana.htm> Enero 12 2004
20. Har, C: Antibiotic Resistance: An increasing problem?. Abril 1998; 25:316.
21. Sánchez Nancy. Unidad de Análisis y Tendencias de Salud: Efecto de una Política de Control Antimicrobiana en la Susceptibilidad de los Microorganismos. MNSAP. La Habana Cuba, 1991, p 697-699.
22. Martín A, *et al.* Uso y Eficacia de la Miocamicina en infecciones de piel y tejido blando en niños. Caracas, Hospital Universitario. Disponible en:
<http://www.boletín1996.htm> Enero 16 2004
23. Comegna M. *et al.* "Resistencia Bacteriana a los Antibióticos". Sep-Oct 1999;19: 1-11. Disponible en:
<http://www.amimc.org.mw/revista/vol19numero5.PDF> Enero 15 2004
24. Investigación. "Resistencia a los Antibióticos". Europa. Disponible en:
<http://www.europainvestigacion-resistenciaalosantibioticos.htm> Julio 12 2003
25. Pacheco Julio. Mecanismos de Resistencia Microbiana. Arequipa, Perú. Disponible en : <http://www.larevistamecanismosderesistenciamicrobiana.htm> Julio 10 2003
26. Gómez R. Nuevos Antibióticos de Administración Oral en el Tratamiento de infecciones de las vías respiratorias. 1995; 2:72
27. Jacoby G, Archer G. New Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents, N. Eng I. Med ; 324:601.

28. Sarde M, *et al.* Agentes Antimicrobianos: Consideraciones Generales. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana, 1994.
29. Informe de Vigilancia Antimicrobiana OPS. Mayo 2002. Disponible en: <http://www.panamericanhealthorganization.htm> Julio 12 2003
30. Rojas N, *et al.* Revista Cubana Médica Trop: Patrones de Drogorresistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico humano. 2001; 53:1,8. Disponible en: <http://www.patronesdedrogorresistenciadecepasdes.aureusdeotrigen.htm> Julio 15 2003
31. Mecanismos de Resistencia de *Staphylococcus aureus*. Octubre 1999. Disponible en: <http://www.iladiba.com.co/upr/1999/No51999/HTM/ANTIBIO.at> Julio 12 2003
32. Rodalh V, Westh H, Jensen K. Scard J. Infect Disease: Antibiotic susceptibility and phage-type pattern of *S. aureus* strains isolated from patients in general practice compared to strains from hospitalized patients. 1990; 22:315-20. Disponible en: http://www.antibioticsusceptibilityandpage_types.aureus.htm Enero 12 2004
33. Klugmann K. Resistencia a los Antimicrobianos; Una Amenaza Mundial. 2000 Número Doble 28, 29:1-37. Disponible en: <http://www.who.int/medicines/library/monitor/edm28-29sp.PDF> Julio 12 2003
34. Salvatierra-González R, Benguigui Y, eds. Resistencia Antimicrobiana en las Américas; Magnitud del Problema y su Contención. Organización Panamericana de la Salud OPS, 2000 (p39-60).
35. Belloso Aldo, Antibiocoterapia basada en la Evidencia. UBA. Septiembre 2001. Disponible en: http://www.articulos-Zsalud_com.htm. Enero 12 2004

36. Wegener HC, Bager F, Aaleshup FM. Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana en el Hombre, Productos Alimenticios y Ganado en Dinamarca. Marzo 1997; 2. Disponible en: <http://www.vigilanciaderesistenciabacteriana.htm> Enero 16 2004
37. Factores de Virulencia y Mecanismos de Resistencia de Microorganismos Patógenos. Disponible en: http://www.ugres/~cianez/Microbiologia/21_micro.html#intro. Enero 16 2004
38. Vigilancia *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente en países latinoamericanos. Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/amr-santacruz-gut.PDF> Enero 16 2004
39. Departamento de Biología Molecular. Mecanismos Moleculares de La Resistencia Bacteriana: Tratamiento de la Resistencia Bacteriana. México, 1994. Disponible en: http://www.vol36_No_4_mecanismosmolecularesderesistencia.htm Enero 10 2004
40. Revista de la Sociedad de Medicina Interna. Telitromicina. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: http://www.Smiba_elfuturodelasociedadmiBs_A.htm Enero 15 2004
41. Revista Chilena Infectología. Raul Zemelina. Sociedad Chilena de Infectología 2004. 19: 13:26.
42. García R Luis F. Factores Asociados con Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, adquiridas en el Hospital General San Juan de Dios. Guatemala, USAC (Tesis de Graduación, FCCQQ y Farmacia) 2002.
43. Aparicio G, *et al.* Resistencia a Antibióticos por *Staphylococcus aureus* de origen diverso y su utilidad en la tipificación de cepas. 1994; 6 (2) 47-52.
44. John Davis. Infections Diseases. Journal of Infections Diseases. Julio 1997; 176:69.

45. Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en el Hospital de la Habana, Cuba. 2000. Disponible en: <http://www.resistenciaalaspenicilinaslaHabana.htm> Diciembre 20 2003
46. Tablas de estandarización e interpretación de susceptibilidad antimicrobiana de NCCLS. Disponible en: <http://www.NationalCommitteeForClinicalLaboratoryStandar.htm> Diciembre 20 2003
47. Baquero F. Gram Positive Resistance: Challenge for the development at new antibiotics. 1997; 39:5.
48. Dr. Scope. "Educación Médica Continua". Derechos Reservados 2000. Disponible en: <http://www.contenido.htm> Diciembre 18 2003
49. Morales Márquez, Luis Fernando. Frecuencia de colonización nasal por *Staphylococcus aureus* en personal de enfermería de los servicios de Medicina Interna, Cirugía y Ginecobstetricia del Hospital Central Universitario "Dr. Antonio María Pineda", Barquisimeto Estado Lara. Lapso1999- Cota: T WC195 M67 2001. Disponible en: <http://www.bimucledescriptoralejandriabe4,7,1,7k.htm>. Enero 12 2004
50. Revista Chilena Infectología. Raul Zemelina. Sociedad Chilena de Infectología *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. 2004 20: 13. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmcorhtml%20/mm5126athm>. Enero 10 2004
51. Enfermedades Infecciosas producidas por *Staphylococcus aureus*. Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/arm-santa-cruz-gut.PDF> Diciembre 16 2003
52. García-Altez, A. Jovell, AJ. La otra cara de la moneda: Análisis socioeconómico de la resistencia a los antibióticos. 17 sup12:27-31. 1994.
53. Cifuentes Osorio, *et al.* Resistencia Antimicrobiana en las Américas; Magnitud del

- Problema y su contención del Programa de Resistencia Bacteriana en México, Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica 2000. OPS, p 68.
54. Revista Medicina. Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, volumen 6 2000. Disponible en: www.fvet.uba.ar/invet/volmen6art5.pdf Enero 15 2004
55. A: Navascués, J.J. García, Irure, F. Guillen. Situación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital de Navarra (2000-2002). Disponible en: <http://www.sciELO.iScii.eS/pdfasisna/v27n1/original1.pdf> Enero 28 2005.
56. González Ileana, *et al.* Resistencia a las penicilinas en la Habana, Cuba y su incidencia en el género *Staphylococcus*. Frecuencia de aparición de *Staphylococcus* resistente a la meticilina. Hospital La Habana Cuba. 2004. Disponible en: <http://www.smy.org.uy/emc/novedades/sarmr/camra-4.pdf>. Enero 28 2005
57. Informe Ateneo General. *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente. OPS/OMS. Montevideo Uruguay. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Julio 2004. Disponible en: <http://www.ops.org.uy/pdf/enfranso1.pdf>. Enero 28 2005
58. Juan J. Camarena, Roberto Sánchez. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control Calidad SEIMC. Disponible en: <http://www.tratamiento.htm>. Enero 28 2005.

XII. ANEXOS

Preparación del agar Mueller Hinton:

1. Prepare el agar MH a partir de la base deshidratada de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.
2. Inmediatamente después de esterilizar haga enfriar en baño de agua hasta 45-50°C.
3. Ponga el medio en las placas de Petri hasta un nivel aproximado de 4 mm. Esto corresponde a 60-70 ml de medio para placas de 150 mm de diámetro y 25 a 30 ml para las de 10 mm de diámetro interno.
4. Las placas que no se usan en el día pueden mantenerse en refrigerador (2-8°C).
5. Las placas con más de 7 días de preparación no son adecuadas para las pruebas de sensibilidad salvo que sean envueltas en bolsas de plástico para evitar la desecación, de lo contrario deberán controlarse con los microorganismos de referencia.
6. Debe controlarse la esterilidad de cada lote incubando 24 horas o más a 30-35°C. Luego descarte esas muestras.

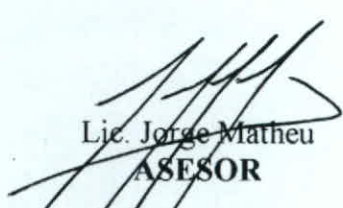
pH:

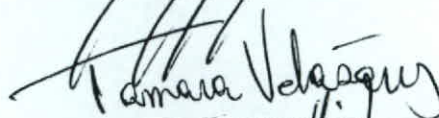
El pH para cada lote debe ser controlado cuando se prepara el medio. El agar debe tener un pH de 7.2 - 7.4 a temperatura ambiente y debe determinarse después de su solidificación. Si el pH es demasiado bajo, ciertas drogas como aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos, parecerán menos activas; mientras otras como tetraciclinas parecerán tener mayor actividad. Si el pH es demasiado alto se podrían esperar los efectos opuestos.

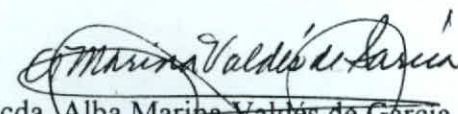
Humedad:

Si justo antes de usar, hay exceso de humedad en la superficie, las placas deben ser incubadas a 35°C durante 10-30 minutos. Las placas deberán estar húmedas pero no mostrar gotas sobre la superficie del medio (46).

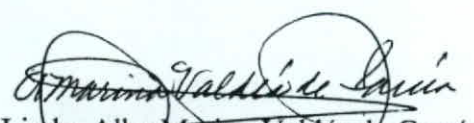

 Jeniffer Paz Teyul
AUTORA

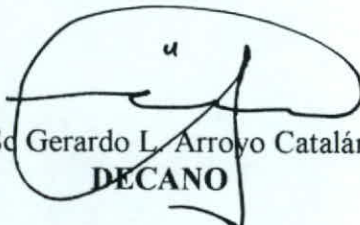

 Lic. Jorge Matheu
ASESOR


 Licda. Tamara Velásquez
ASESORA


 Licda. Alba Marina Valdés de García
REVISORA


 M.Sc Blanca Samayoa
REVISORA


 Licda. Alba Marina Valdés de García
DIRECTORA DE ESCUELA


 M.Sc Gerardo L. Arroyo Catalán
DECANO