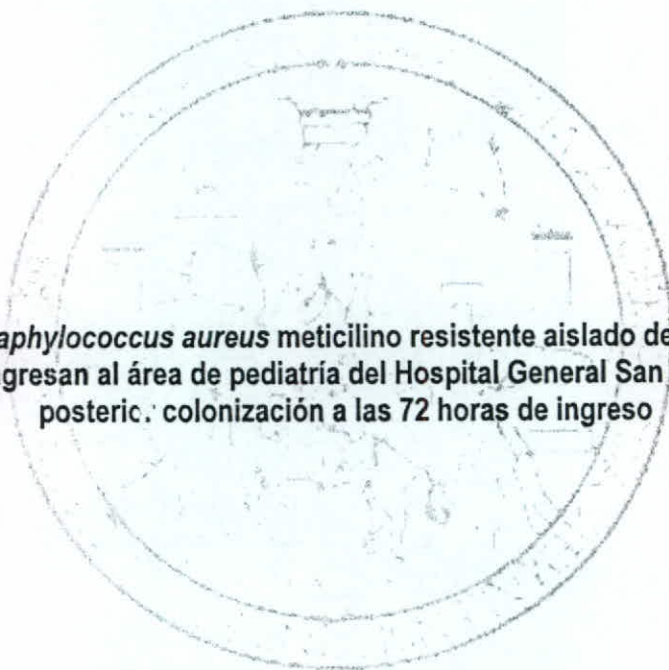


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Monitoreo de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente aislado de fosas nasales de pacientes que ingresan al área de pediatría del Hospital General San Juan de Dios y su posterior colonización a las 72 horas de ingreso

María Gabriela Abdalla Mansilla

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, septiembre del 2006

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

Monitoreo de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente aislado de fosas nasales de  
pacientes que ingresan al área de pediatría del Hospital General San Juan de Dios y su  
posterior colonización a las 72 horas de ingreso

Informe de Tesis

Presentado por

María Gabriela Abdalla Mansilla

Para optar el título de

Química Bióloga

Guatemala, septiembre del 2006

DL  
06  
T(2351)

## JUNTA DIRECTIVA

Ph.D. Oscar Manuel Cobar Pinto	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona	Secretaria
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Angel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Angel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

## ACTO QUE DEDICO

A Dios por estar conmigo en los momentos más difíciles y brindarme todo su amor y darme las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mis padres, Julio y Juanita quienes han sido una bendición en mi vida, les agradezco la formación que me dieron, la educación que me brindaron y sobre todo del amor del que me han rodeado.

A mis hermanos, Carol, Keila, Benja y Moy a quienes quiero por igual y les agradezco por toda la ayuda y apoyo constante que me han brindado en mi vida.

A mi primo Oswaldo y a mi cuñado Victor quienes han sido una inspiración para llegar a ser una buena profesional y desempeñar mi carrera con éxito, les agradezco mucho sus consejos.

A mis amigos, especialmente Karlita, Guicho, Carlitos, Vero, Nancy, Dina, Lesbia, Gordo, Rodrigo, Rubén y Byron por haberme acompañado en los momentos inolvidables de la U y a quienes quiero mucho.

## AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Jorge Matheu y el Dr. Carlos Grazioso por su ayuda y orientación en el desarrollo de la investigación.

Al personal del laboratorio del Hospital General San Juan de Dios, principalmente al personal técnico del área de Microbiología a quienes agradezco su colaboración y en cuyos laboratorios se efectuó la presente investigación.

Al Laboratorio Nacional de Salud por haberme brindado el material necesario para la realización de la investigación.

Al personal del área de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios por su valiosa colaboración.

A el Lic. Osberth Morales y a la Licda. Alba Marina Valdés de García por su valiosa asesoría.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, institución a la que agradezco mi formación profesional y mi alma mater.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, sus autoridades, personal docente y administrativo.

## ÍNDICE:

TEMA	PÁG.
I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Antecedentes	5
A. Infecciones adquiridas en hospitales (nosocomiales)	5
B. Patógenos hospitalarios	6
C. Género <i>Staphylococcus</i>	6
1. <i>Staphylococcus</i> y <i>Micrococcus</i>	7
2. Pruebas para identificar <i>Staphylococcus aureus</i>	8
3. Patogénesis de las infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i>	9
4. Resistencia de estafilococos hacia las drogas antimicrobianas	11
5. Defensas del hospedero contra las infecciones estafilocócicas	12
6. Tratamiento	12
7. Prevención y control	12
D. Tipos de resistencia en <i>Staphylococcus</i> sp.	13
1. <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistente (MRSA)	14
2. Desarrollo de resistencia a la vancomicina en pacientes con MRSA	15
E. Resistencia y determinación de susceptibilidad antibiótica	15
1. Aparición de genes de resistencia	16
2. Resistencia a antibióticos $\beta$ -lactámicos	17
3. Resistencia a meticilina o penicilinas isoxazólicas	18
F. Resistencia a los antimicrobianos $\beta$ -lactámicos	18
1. Inactivación de la droga debida a $\beta$ -lactamasas que dividen el anillo $\beta$ -lactámico	18

2. Efectos colaterales de los $\beta$ -lactámicos	19
IV. Justificación	20
V. Objetivos	21
VI. Hipótesis	22
VII. Materiales y métodos	23
VIII. Resultados	27
IX. Discusión de Resultados	36
X. Conclusiones	42
XI. Recomendaciones	43
XII. Referencias	44
XIII. Anexos	49

## I. RESUMEN:

*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) está presente en muchos lugares alrededor del mundo. Muestra una habilidad particular para mutar y diseminarse, convirtiéndose en un importante microorganismo resistente a antibióticos.

Luego del primer caso de resistencia a la meticilina en 1961, se fueron reportando otros casos de MRSA en Europa, Australia, India y Estados Unidos.

El descubrimiento de la penicilina en 1940 revolucionó el tratamiento para varias infecciones, incluyendo las causadas por *S. aureus*. Pero la aparición de cepas productoras de penicilinasas luego de una serie de mutaciones, ha dejado al personal de salud admirado. Desde que este microorganismo desarrolló resistencia a las penicilinas sintéticas tales como la meticilina y oxacilina, al producir las penicilinasas, se ha visto que este microorganismo se ha adaptado a casi todos los antibióticos. Hoy en día, cepas de MRSA son usualmente resistentes a la mayoría de antibióticos y son susceptibles solamente en presencia de vancomicina y teicoplanina.

El objetivo principal de este estudio fue monitorear la colonización de los pacientes que ingresan a los servicios de cuidados intensivos de Pediatría con MRSA, así mismo determinar la presencia de este microorganismo en dichos pacientes de las salas estudiadas (Unidad de Terapia Intensiva -UTIPI-, Cuidados Intermedios -UCIN-). Para esto se tomaron muestras nasales por medio de hisopado nasofaríngeo al momento de ingreso y a las 72 horas. Se inocularon en los respectivos medios para luego proceder a la identificación de *S. aureus*. Se evaluó la respuesta de éstas cepas hacia el antibiótico oxacilina y las que resultaron ser MRSA se les determinó nuevamente la respuesta de susceptibilidad hacia los antibióticos normados por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Los resultados fueron los siguientes: de los 96 niños que ingresaron al estudio, se aislaron 27 cepas de *S. aureus*, de las cuales 7 (25.93%) fueron MRSA y 20 (74.07%) fueron *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (MSSA). De éstas 7 cepas, 5 (71.43%) fueron aisladas de UTIP y 2 (28.57%) de cuidados intermedios. Éstas 7 cepas corresponden a 5 pacientes (5.21%); de los cuales a 3 de ellos (3.13%) les fue aislado MRSA en el hisopado que se les hizo al momento de ingreso, y los otros dos pacientes (2.08%) en el hisopado que se realizó a las 72 horas de haber ingresado al servicio.

El 100% de los aislamientos de MRSA fueron susceptibles a vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazole como se esperaba. El 100% de las cepas presentaron resistencia a la penicilina, cefoxitina, eritromicina y clindamicina, 6 cepas (85.7%) presentaron resistencia a la



ciprofloxacina, al cloranfenicol 3 cepas (42.9%) fueron resistentes y 4 cepas (57.1%) fueron sensibles.

Además como información adicional se obtuvieron cepas de *K. pneumoniae*, el cual es un microorganismo que no forma parte de la microbiota normal nasal pero se aisló en un número considerable de las muestras nasales. En éstas cepas se buscó betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y betalactamasas de espectro ampliado (BLEA). De las 15 cepas que se aislaron 12 (80%) presentaron BLEE y 3 (20%) presentaron BLEA, el cual es un mecanismo de resistencia natural en *K. pneumoniae*.

Es de importancia la detección de éstas betalactamasas en las cepas de *K. pneumoniae*, las cepas que producen BLEE se consideran como multirresistentes, teniendo como única alternativa de tratamiento imipenem o meropenem, los cuales no se deben usar, para no desarrollar resistencia hacia éstos y por lo tanto se limitan los antibióticos para tratar estos microorganismos.

Todas las cepas MRSA que fueron aislados se consideran hospitalarias, debido a que todas presentaron multirresistencia y la observación de múltiple resistencia debe alertar sobre la posibilidad de cepas de MRSA hospitalario; lo cual es un problema que se debe controlar para evitar brotes epidémicos y diseminación de éstas cepas a la comunidad.

Entre las precauciones que se deben tener para evitar la diseminación de estas cepas son: lavado de manos antes y después de cualquier contacto con infectados y el empleo de barreras que eviten el contacto con fluidos o sangre, como guantes de un solo uso y bata.

Proveer la información necesaria para el personal del hospital acerca de la infección causada por MRSA, su impacto en los pacientes y en el hospital, como prevenirla y controlarla.

Desinfectar adecuadamente los servicios de cuidados intensivos, esto para procurar una menor diseminación de las cepas de *K. pneumoniae*.

## II. INTRODUCCIÓN:

Se han ido reconociendo nuevos patógenos bacterianos en los últimos 25 años y algunos de estos patógenos bacterianos antiguos, tales como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis*, han ido emergiendo con nuevos determinantes de virulencia tales como nuevos patrones de resistencia hacia los agentes antimicrobianos (1).

*Staphylococcus aureus* constituye una de las causas más comunes de infección hospitalaria o adquirida en la comunidad. Luego de la aparición de cepas resistentes a penicilina; la metilina y otras penicilinas semisintéticas resultaron eficaces contra este patógeno, pero a partir de 1980, las cepas resistentes a metilina se hicieron endémicas en muchos hospitales. Desde entonces, el glicopéptido vancomicina ha sido el único antibiótico eficaz frente a este tipo de infecciones estafilocócicas (2).

Las dos especies de *Staphylococcus* que viven en asociación con los humanos son: *Staphylococcus epidermidis* que reside normalmente sobre la piel y las mucosas, y *Staphylococcus aureus* que puede habitar normalmente varios lugares, pero en particular en la membrana nasal. *S. epidermidis* raramente es un patógeno y probablemente beneficia a su hospedero por la producción de ácidos sobre la piel, los cuales retardan el crecimiento de hongos dermatofíticos. *Staphylococcus aureus* es considerada como una bacteria potencialmente patógena debido a que posee un amplio número de determinantes de virulencia (estructurales, bioquímicos o aspectos genéticos que permiten que la bacteria cause enfermedad) y esto puede ocurrir siendo parte de la microbiota normal de los humanos (sobre la piel, membranas nasales y en el tracto gastrointestinal) que permiten y aseguran que ésta bacteria sea transmitida rápidamente de un individuo a otro (1).

*Staphylococcus aureus* metilino resistente (MRSA) es actualmente una de las bacterias que más preocupa a los médicos, microbiólogos e infectólogos. Además cepas con estas características (MRSA) ya circulan en la comunidad. Se sabe que *Staphylococcus aureus* (MRSA) puede estar presente como un integrante de la microbiota normal de los individuos, personal de salud y también formar parte de la microbiota intrahospitalaria por lo que se hace difícil su control (1,3).

Las infecciones que son provocadas por el MRSA son muy diversas y estas no sólo ponen en riesgo la vida de los pacientes sino que aumentan enormemente los costos asistenciales. Pueden formar parte de la endemia del hospital o provocar brotes en un determinado servicio planteando serios desafíos para su control y prevención (3).

MRSA es un patógeno nosocomial muy importante, que se ha aislado recientemente del personal de las distintas áreas del Hospital General San Juan de Dios (4).

MRSA se define como la cepa que presenta una concentración inhibitoria mínima (CIM) a la oxacilina igual o mayor a 4 ug/ml, o un halo de inhibición menor o igual a 10 mm, con disco de oxacilina de 1 ug (5).

El presente estudio descriptivo tuvo como principal objetivo monitorear la colonización de los pacientes con MRSA al momento del ingreso al hospital. Se hizo un hisopado nasal al momento de su ingreso y posteriormente a las 72 horas, obteniéndose las muestras que fueron inoculadas en los respectivos medios de cultivo en los que se obtuvieron cepas de *Staphylococcus aureus*, a los cuales se les realizó un antibiograma con discos recomendados por la NCCLS para *S. aureus*.

La importancia de llevar a cabo una vigilancia de la resistencia antimicrobiana en el ambiente hospitalario radica principalmente en la toma de medidas apropiadas para controlar y prevenir brotes que puedan suscitarse dentro del hospital; y a su vez con esta información ayudar al personal de salud relacionado con el paciente a tener políticas más claras para tratar de prevenir éstas infecciones, cuidando de que la salud del paciente internado empeore y a su vez disminuyendo costos de hospitalización para el hospital.

### III. ANTECEDENTES:

#### A. Infecciones Adquiridas en Hospitales (Nosocomiales):

El hospital puede no ser un lugar donde las personas enfermas se alivien, sino también puede ser un sitio donde las personas se enfermen más. El hecho es que la infección cruzada de paciente a paciente o del personal del hospital a los pacientes, presenta un peligro constante. Las infecciones adquiridas en los hospitales se llaman **infecciones nosocomiales** (*nosocomium* es la palabra latina para hospital) y ocurren en alrededor del 5% de todos los pacientes admitidos. Las infecciones hospitalarias se deben en parte a la presencia de microorganismos patógenos que han sido seleccionados por el ambiente del hospital (4).

Los hospitales son especialmente peligrosos por las siguientes razones: 1) Muchos pacientes tienen resistencia debilitada a las enfermedades infecciosas por su propia enfermedad (hospedero comprometido). 2) Los hospitales, necesariamente, deben tratar a pacientes que sufren de enfermedades infecciosas y a pacientes que son reservorios de patógenos altamente virulentos. 3) La multitud de pacientes en los cuartos y salas aumentan la oportunidad de la infección cruzada. 4) Hay mucho movimiento del personal del hospital de paciente a paciente, aumentando la probabilidad de transferencia de patógenos. 5) Muchos procedimientos de hospital, por ejemplo la cateterización, la inyección hipodérmica, la punción espinal, y la remoción de muestras de tejidos o de líquidos para el diagnóstico (biopsias), llevan con ellos el riesgo de introducir patógenos al paciente. 6) En las salas de maternidad, los bebés recién nacidos suelen ser susceptibles a ciertas clases de infección, ya que carecen de un sistema inmunológico bien desarrollado. 7) Los procedimientos quirúrgicos son un peligro importante, porque no son solamente las partes más susceptibles del organismo las que se exponen a las fuentes de contaminación, sino que la tensión de la cirugía suele disminuir la resistencia del paciente a una infección. 8) Muchos de los fármacos que se utilizan para la inmunosupresión (por ejemplo en los procedimientos de trasplante de órganos) incrementan la susceptibilidad a las infecciones. 9) El uso de antibióticos para el control de las infecciones acarrea con ellos el riesgo de seleccionar organismos resistentes a los antibióticos, los cuales no se pueden controlar si causan una infección posterior (6).

## B. Patógenos Hospitalarios:

Aunque en el ambiente hospitalario hay una gran diversidad de patógenos, una cantidad relativamente limitada provocan la mayor parte de las infecciones hospitalarias. *Escherichia coli* que es introducido presumiblemente a partir de la flora normal, es la causa más común de infecciones del conducto urinario en los hospitales, pero también suelen intervenir otras bacterias entéricas como *Pseudomonas aeruginosa* (que está implicada en infecciones de las vías respiratorias inferiores). *Enterococcus faecalis* también un patógeno ordinario del conducto urinario; la levadura *Candida albicans* se encuentra en raras ocasiones (5).

Uno de los más importantes y más diseminados patógenos de hospitales es el *Staphylococcus aureus* (7).

Éste suele estar asociado con la piel, la cirugía e infecciones de las vías respiratorias inferiores, y es un problema particularmente frecuente en las infecciones adquiridas por los recién nacidos en el hospital. Algunas cepas de rara virulencia se han asociado ampliamente con las infecciones nosocomiales, tanto, que a veces se les designa como **estafilococos hospitalarios**. El hábitat de estos estafilococos es el conducto respiratorio superior, de suyo las fosas nasales y con más frecuencia se han establecido como la microbiota normal en el personal del hospital. En este personal sano, el organismo puede no causar enfermedad, pero estos portadores asintomáticos pueden ser una fuente de infección para los pacientes susceptibles. Como los estafilococos son resistentes a la desecación, sobreviven durante largos periodos sobre las partículas de polvo y otros objetos inanimados y posteriormente pueden infectar a los pacientes. Por la gravedad potencial de la infección con estafilococos de hospital, se requiere la cuidadosa aplicación de los principios de sanidad hospitalaria (8,9).

## C. Género *Staphylococcus*:

En 1884, Rosenbach describió dos tipos de colonias pigmentadas de estafilococos y propuso la nomenclatura apropiada: *Staphylococcus aureus* (amarillo) y *Staphylococcus albus* (blanco), posteriormente esta especie es nombrada *Staphylococcus epidermidis*. Además, diecinueve especies de *Staphylococcus* son descritas en el Manual de Bergey (1992), pero solamente *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* tienen relevancia clínica en su interacción con los humanos. *S. aureus* coloniza regularmente las fosas nasales, este puede ser encontrado regularmente en otros lugares anatómicos. *S. epidermidis* es un habitante de la superficie de la piel (1).

## 1. *Staphylococcus* y *Micrococcus*:

Taxonómicamente, los genes de *Staphylococcus* se encuentran dentro de la familia bacteriana *Micrococcaceae*, pero los estafilococos están filogenéticamente sin relación con algún otro género en la familia. Una amplia variedad de criterios genéticos indican que el gen de *Staphylococcus* forma un coheso y bien definido grupo natural que es ampliamente divergente de los genes de *Micrococcus*. Sobre la base del análisis de 16s RNA, los genes de *Staphylococcus* pertenecen al amplio grupo de *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus*. Las similitudes de los estafilococos corresponden a los planococos, enterococos y bacilos. Las similitudes de *Micrococcus* son con las artobacterias (7,9).

*Staphylococcus* y *Micrococcus* son organismos aerobios con un metabolismo respiratorio típico. Son catalasa positivos y esta prueba permite distinguir entre *Streptococcus* y algunos otros géneros de cocos Gram-positivos (6,7).

Los dos géneros, *Micrococcus* y *Staphylococcus*, se pueden separar fácilmente con base en pruebas de oxidación/fermentación (O/F) (10,11).

*Micrococcus* es un aerobio obligado y produce ácido a partir de la glucosa, en tanto que *Staphylococcus* es un aerobio facultativo y produce ácido a partir de glucosa tanto aeróbica como anaeróticamente. Sus composiciones de bases del DNA también son muy diferentes: las especies de *Micrococcus* tienen relaciones GC (guanina-citosina) muy altas, en tanto que las especies de *Staphylococcus* las tienen más bien bajas (7,8).

El género *Staphylococcus* pertenece a la familia *Micrococcaceae* y según el Manual de Bergey's se divide en tres especies: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. Esta división se basa en la diferenciación por medio de la producción de coagulasa, termonucleasa, toxina y la utilización de manitol aeróbica o anaeróticamente, así como por requerimientos nutricionales, componentes de la pared celular y la susceptibilidad a la novobiocina (11).

Microscópicamente se observan cocos, gram positivo, aislados, en parejas, en cadenas cortas o en racimos irregulares. *Staphylococcus aureus* forma una colonia considerablemente larga y amarilla sobre un medio enriquecido, *S. epidermidis* tiene unas colonias relativamente pequeñas y blancas. *S. aureus* es regularmente hemolítico sobre agar sangre; *S. epidermidis* no es hemolítico. Los estafilococos son anaerobios facultativos que crecen por respiración aeróbica o por fermentación que produce principalmente ácido láctico. Estas bacterias son catalasa-positiva y oxidasa-negativa. *S. aureus* puede crecer a un rango de temperatura de 15° a 45° C y a concentraciones altas de NaCl (15%) (Ver Tabla 1. Anexos) (1). Todas las variedades de *S. aureus* producen la enzima coagulasa: mientras que todas las variedades de *S.*

*epidermidis* carecen de esta enzima. *S. aureus* debe considerarse siempre como un patógeno potencial; la mayoría de las variedades de *S. epidermidis* no son patogénicas e incluso pueden jugar un rol de protección en el hospedero como microbiota normal. *Staphylococcus epidermidis* puede ser un patógeno en el ambiente hospitalario (1).

Los estafilococos son células perfectamente esféricas y miden alrededor de un micrómetro de diámetro. Estos crecen en racimos porque los estafilococos se dividen en dos planos. La configuración de los cocos ayuda a distinguir los estafilococos de los estreptococos, los cuales son células un poco oblongas que usualmente crecen en cadenas (debido a que ellas se dividen en un plano solamente) (12). La prueba de catalasa es importante en la diferenciación de estreptococos (catalasa-negativa) de estafilococos, que son productores vigorosos de catalasa (11).

Crece bien en agar tripticasa soya o agar nutritivo, pero desarrolla colonias más grandes en agar sangre de carnero. Su actividad hemolítica es variable. La mayoría de cepas fermentan el manitol, toleran concentraciones relativamente altas de sal (7.5-10%) y es resistente a la polimixina (11).

## 2. Pruebas para Identificar *S. aureus*:

- a. **Prueba de Coagulasa:** la prueba de coagulasa es uno de los mejores criterios empleados para diferenciar *S. aureus*. Puede ser realizada en lámina para la medición de coagulasa unida, o en tubo para la medición de coagulasa libre (12).

**Método del tubo directo:** se reconstituyen con agua destilada los frascos que contienen el plasma de conejo deshidratado y se distribuye en cantidades de 0.5 ml dentro de tubos de ensayo de 7 mm. Se agrega 0.05 ml del cultivo bien crecido del caldo que se vaya a ensayar, en una emulsión gruesa en agua de una colonia o de una porción de cultivo en declive que se toma con un asa. Se agitan los tubos para obtener una mezcla completa, incubándose después a 37°C por 4-24 horas. Cualquier grado de coagulación se considera como un resultado positivo (12).

- b. **Prueba de Catalasa:** la catalasa es una enzima capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular. La enzima catalasa está presente en la mayoría de los citocromos contenidos en las bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas. El pH óptimo para la actividad de la catalasa es 7. La prueba puede realizarse en lámina picando el centro de una colonia pura y luego colocarlo sobre un portaobjetos limpio, se adiciona una gota de peróxido de hidrógeno al 3% sobre la lámina y se observa si hay desprendimiento de

burbujas. Las pruebas positivas de catalasa producen oxígeno y burbujas. Esta prueba no debería ser realizada sobre agar sangre porque la sangre contiene catalasa (1).

**En tubo:** se adiciona directamente 1 ml de peróxido de hidrógeno al 3% a un cultivo de 24 horas en agar slant y se observa la producción de oxígeno (1).

- c. **Fermentación de Manitol:** en el agar de manitol sal, las especies positivas producen grandes zonas amarillas, opacas, en el medio circundante (1,9).
- d. **Tipos de Hemólisis:** alfa hemólisis ( $\alpha$ ), beta hemólisis ( $\beta$ ), gamma hemólisis ( $\gamma$ ) y alfa prima o zona ancha alfa (W Z) (1,9). (Ver Tabla 2. Anexos)

### 3. Patogénesis de las Infecciones por *Staphylococcus aureus*:

*Staphylococcus aureus* causa una variedad de infecciones supurativas (formadoras de pus) e intoxicación en humanos. Éste causa lesiones superficiales en la piel tales como furúnculos e impétigo; además, infecciones más serias como neumonía, mastitis, flebitis, meningitis, e infecciones del tracto urinario; también infecciones más profundas como osteomielitis y endocarditis. *Staphylococcus aureus* es la mayor causa de infecciones adquiridas en el ambiente hospitalario (infección nosocomial) por heridas de cirugías e infecciones asociadas con personal médico. *S. aureus* también puede causar intoxicación alimentaria por la producción de enterotoxinas en la comida, causando también el síndrome llamado del choque tóxico (8, 9,13).

- Staphylococcus aureus* expresa varios factores de virulencia muy potentes:
- (1) Proteínas de superficie que promueven la colonización de los tejidos del hospedero.
  - (2) Invasinas que promueven el desarrollo bacteriano en los tejidos (leucocidina, quinasas, hialuronidasa).
  - (3) Factores de superficie que inhiben el englobamiento fagocítico (cápsula, proteína A).
  - (4) Propiedades bioquímicas que aseguran su sobrevivencia dentro de los fagocitos (carotenoides, producción de catalasa)
  - (5) Enmascaramiento inmunológico (proteína A, coagulasa, factor de coagulación)
  - (6) Toxinas que dañan la membrana y que lisan las membranas de las células eucarióticas (hemolisinas, leucotoxina, leucocidina)
  - (7) Exotoxinas que dañan los tejidos del hospedero o que provocan síntomas de enfermedad, éstas son superantígenos que *S. aureus* secreta; estas toxinas se dividen en dos tipos: las enterotoxinas que a su vez se dividen en seis tipos antigénicos (llamados SE- A,B,C,D,E y G) y



una toxina que provoca el síndrome de shock tóxico (TSST-1). También produce una toxina exfoliativa (ET) que es la causa del síndrome de la piel escaldada en los neonatos.

(8) Resistencia inherente y adquirida hacia agentes antimicrobianos (13).

En la mayoría de enfermedades causadas por *S. aureus*, la patogénesis es multifactorial, así que esto dificulta la determinación precisa del factor determinante. Como sea, hay correlaciones entre variedades aisladas de enfermedades particulares y la expresión en particular de un determinante de virulencia, que sugiere el rol en una enfermedad en particular (13). Con algunas exotoxinas, los síntomas de una enfermedad humana pueden ser reproducidos en animales con las proteínas purificadas. La aplicación de biología molecular ha permitido el avance para descifrar la patogénesis de la enfermedad estafilocócica. Los genes codifican factores potenciales de virulencia que han sido clonados y secuenciados, y algunas toxinas proteicas han sido purificadas. Las infecciones humanas estafilocócicas son frecuentes, pero usualmente permanecen localizadas al portal de entrada por las defensas normales del hospedero. El portal puede ser un folículo piloso, pero usualmente la ruptura de la piel puede ser por medio de una aguja o algún instrumento quirúrgico. Cuerpos extraños, incluyendo suturas, son rápidamente colonizadas por estafilococos, que pueden volverse infecciones difíciles de controlar. Otro portal de entrada es el tracto respiratorio. La neumonía estafilocócica es una complicación frecuente de la influenza. La respuesta localizada del hospedero a la infección estafilocócica es la inflamación, caracterizada por una elevación de temperatura en el lugar de infección, hinchazón, acumulación de pus y necrosis del tejido. Alrededor del área inflamada, se puede formar un coágulo de fibrina, rodeando y protegiendo a la bacteria presentando ampollas características llenas de pus o abscesos. Otras infecciones serias de la piel pueden ocurrir, tales como furúnculos o impétigo. Las infecciones localizadas del hueso son llamadas osteomielitis. Serias consecuencias de las infecciones estafilocócicas ocurren cuando la bacteria invade el torrente sanguíneo. El resultado de una septicemia puede ser fatal rápidamente; una bacteremia puede ser resultado de la diseminación en otros abscesos internos, también provoca otras lesiones de la piel, o infecciones en los pulmones, riñones, corazón, músculos esqueléticos o meninges (1,13).

#### 4. Resistencia de Estafilococos hacia las drogas antimicrobianas:

Las cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* son usualmente resistentes a una variedad de diferentes antibióticos. Algunas cepas son resistentes a todos los antibióticos que se usan clínicamente, excepto a la vancomicina y raramente, son reportadas cepas vancomicina-resistente. El término **MRSA** se refiere a ***Staphylococcus aureus* metilino resistente**. La resistencia a la metilina es ampliamente difundida y la mayoría de cepas metilino-resistente también son multirresistentes. Un plásmido asociado con la resistencia a la vancomicina ha sido detectado en los enterococos (*Streptococcus faecalis*), que puede ser transferido al *Staphylococcus aureus* en el laboratorio y se especula que esta transferencia puede ocurrir naturalmente (Ej. en el tracto gastrointestinal). Además, *S. aureus* exhibe resistencia a los antisépticos y desinfectantes, tales como compuestos de amonio cuaternarios, lo cual le ayuda a sobrevivir en el ambiente hospitalario (14).

Las enfermedades estafilocócicas ha sido un problema perenne en el ambiente hospitalario desde los inicios de la era antibiótica. Durante los años de 1950 y cerca de 1960, la infección estafilocócica fue sinónimo de infección nosocomial. Los bacilos gram-negativo (Ej. *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) ha reemplazado al estafilococo en la mayoría de casos frecuentes de infecciones nosocomiales, aunque el estafilococo permanece como un problema. (14) El *Staphylococcus aureus* respondió a la introducción de antibiótico por la forma usual de una bacteria desarrollando resistencia antibiótica:

- (1) Mutación en genes cromosómicos seguida por la selección de cepas resistentes.
- (2) Adquisición de genes de resistencia por plásmidos extracromosómicos, transfiriendo partículas, transposones, u otros tipos de insertos de ADN. *Staphylococcus aureus* expresa la resistencia a las drogas y antibióticos a través de varios mecanismos.

Desde el inicio del uso de la penicilina en 1940 aproximadamente, la resistencia a las drogas se ha desarrollado en los estafilococos en un tiempo muy corto después de la introducción del antibiótico en el uso clínico. Algunas cepas son ahora resistentes a los antibióticos más convencionales y ahí es donde se necesita de nuevos antibióticos. Nuevas estrategias en la industria farmacéutica para encontrar drogas antimicrobianas consiste en identificar los blancos moleculares potenciales en las células (tales como los sitios activos de enzimas envueltas en la división celular), entonces se da el desarrollo de inhibidores específicos para la molécula blanco. Esperanzadoramente, éste acercamiento nos llevaría a nuevos agentes antimicrobianos para batallar contra las infecciones estafilocócicas (15).

## 5. Defensas del hospedero contra las infecciones estafilocócicas:

La fagocitosis es el mecanismo mayor para combatir las infecciones estafilocócicas. Los anticuerpos son producidos para que neutralicen toxinas y promuevan la opsonización. De cualquier modo, la cápsula bacteriana y la proteína A pueden interferir con la fagocitosis. El biofilm que crece sobre los implantes es también impermeable a la fagocitosis (13).

## 6. Tratamiento:

Las infecciones adquiridas fuera de los hospitales usualmente pueden ser tratadas con  $\beta$ -lactámicos resistentes a las penicilinasas. Las infecciones adquiridas en los hospitales son por lo regular causadas por cepas resistentes a los antibióticos y solamente pueden ser tratadas con vancomicina. El vacunar también está disponible ya que estimula la actividad inmune contra las infecciones estafilocócicas en humanos. Una vacuna basada en la unión a la proteína fibronectina induce una inmunidad protectora contra la mastitis en el ganado y también podría ser usada como vacuna en humanos (16,17).

Un suero hiperinmune o anticuerpos monoclonales dirigidos hacia los componentes de la superficie celular (Ej., polisacáridos capsulares o proteínas de adhesión a la superficie) podría teóricamente prevenir la adherencia bacteriana y promover la fagocitosis por opsonización de las células bacterianas. También, un suero humano hiperinmune podría ser dado a los pacientes hospitalizados previo a una cirugía como una forma de inmunización pasiva (16).

Cuando las bases moleculares precisas de las interacciones entre las adhesinas estafilocócicas y los receptores en los tejidos del hospedero se conozcan podría ser posible el diseñar compuestos que bloqueen las interacciones y entonces prevenir la colonización bacteriana. Esto podría ser administrado sistémicamente o tópicamente (16).

## 7. Prevención y control:

Para la transmisión de *Staphylococcus aureus* se requieren de tres elementos: una fuente del agente infeccioso, un hospedero susceptible y un medio de transmisión del agente infeccioso. Para la infección por *S. aureus* nosocomial, las fuentes pueden ser el paciente, el personal del hospital y ocasionalmente un visitante. Los factores de riesgo relacionados con el hospedero, dependen del sitio de infección, el estado inmunológico y el tamaño del inóculo (5,18,19). La transmisión puede ser directa o indirecta y por contacto con un vehículo en

común. El contacto directo es el modo de transmisión más importante y frecuente de *S. aureus* (9). El lavado de manos es la medida más simple e importante para reducir el riesgo de transmitir microorganismos virulentos y multirresistentes en los hospitales (14,20). El uso de agentes tópicos para eliminar la colonización estafilocócica en grupos de alto riesgo, como pacientes que están en tratamiento con hemodiálisis y que han sufrido una cirugía, han reducido la incidencia de infecciones subsecuentes. El más utilizado es mupirocina, pero el uso prolongado de esta droga se ha asociado con resistencia (15,16,17).

Otra alternativa, es el desarrollo de una vacuna multicomponente que incorpora proteínas que son los principales factores de virulencia en la enfermedad estafilocócica (12). Para prevenir epidemias por MRSA es necesario contar con pruebas que permitan establecer una vigilancia epidemiológica adecuada para llevar a cabo un control y prevención de brotes resistentes a los antibióticos (15).

#### **D. Tipos de Resistencia en *Staphylococcus* sp.:**

Hay distintos tipos de *Staphylococcus aureus*, que cada día presentan mayor resistencia. En 1944 había un 5% de resistencia a la penicilina, en 1949 un 50% y en 1995 un 90%(5). En la Tabla 3, se clasifican de acuerdo a la resistencia (Tabla 3. Anexos) (1,6).

El MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) se puede detectar por diferentes técnicas: difusión en disco, aglutinación por látex o por Vitek (sistema automatizado) (20,21). El método de difusión en disco con agar Müeller Hinton se puede emplear para determinar el MRSA, con cefotaxima da <27mm, con moxalactam da <24mm y con oxacilina 1 ug da > o 20mm. Cuando la oxacilina es >20mm, indica que el *Staphylococcus aureus* es sensible a la ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ ácido clavulónico, o sulbactam/ampicilina (14,15).

Recientemente se describió el medio de cultivo con agar manitol sal con cloruro de litio y azul de anilina y con cloruro de sodio al 5.5%, con suplementos de polimixina B y oxacilina para detectar *S. aureus* resistente a oxacilina, e informar el resultado entre las 24 a 48 horas de la siembra. Las colonias MRSA toman el color azul, se confirman con la coagulasa, catalasa, staphitect plus, dry spot o PBP2. Además se le hace control de calidad ya sea positivo para *Staphylococcus aureus* MRSA (ATCC 433000), o negativo para *Staphylococcus aureus* MSSA (ATCC 25923) o *E. coli* ATCC 25922 (14).

También existe el *Staphylococcus coagulasa* negativa que produce resistencia a la meticilina. se puede detectar por aglutinación de látex. Se han encontrado *Staphylococcus epidermidis* resistentes a la meticilina (14).

### 1. *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente:

El *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (MRSA) es en la actualidad un microorganismo endémico en muchos hospitales de todo el mundo. El primer reporte de MRSA fue hecho en 1961 en Europa, al poco tiempo de ser introducida la meticilina como la primer penicilina semisintética resistente a la penicilinasas de *S. aureus*. A inicio de los setenta el MRSA se aisló en diferentes hospitales por toda Europa, Australia y Asia. En Estados Unidos su prevalencia aumentó del 2,4%, en 1975, al 29% en 1991. Este incremento se ha producido no sólo en los grandes hospitales docentes de tercer nivel, sino también en los de pequeñas poblaciones e incluso se ha reportado MRSA adquiridos en la comunidad (17, 18).

El mecanismo de resistencia del MRSA consiste en la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP), denominada PBP 2a (o PBP) con afinidad baja para los  $\beta$ -lactámicos. Esta es codificada por un nuevo gen denominado mec A y conserva su acción de transpeptidasa en la síntesis de la pared bacteriana aún cuando las otras PBP del *S. aureus* estén inhibidas por  $\beta$ -lactámicos (19, 20).

Las vías más comunes de adquirir infecciones por MRSA son la autoinfección de portadores nasales y la transmisión a través de las manos del personal luego de ser colonizadas transitoriamente con estafilococos de su propio reservorio (nariz, piel, garganta) o de pacientes (infectados o altamente colonizados) (18).

Las infecciones por MRSA pueden producir una amplia variedad de síntomas, dependiendo de la parte del cuerpo infectada. Se pueden presentar en heridas quirúrgicas, quemaduras, puntos de colocación de catéter, ojos, piel y sangre. La infección generalmente causa enrojecimiento, inflamación y dolor en el lugar de la infección. Ocasionalmente, las personas pueden ser portadoras del MRSA sin presentar síntomas (18).

La reciente emergencia de *S. aureus* con resistencia intermedia a glicopéptidos (GISA) en infecciones por MRSA que recibieron tratamiento prolongado con vancomicina, ha sido bien documentada. Esta nueva resistencia del *S. aureus* hace énfasis en la importancia del uso prudente de antibióticos y la búsqueda de nuevos antimicrobianos u otras posibilidades terapéuticas, ya que es posible que se desarrolle una mortalidad y morbilidad similar a la de la era pre-antibiótica (21,22,23).

## 2. Desarrollo de resistencia a la Vancomicina en pacientes con MRSA:

La vancomicina ha sido la elección para tratar los MRSA, sin embargo, reportes de pacientes han descrito el fallo de ésta para tratar dichas infecciones.

El mecanismo de resistencia no se conoce aún, pero se sabe que puede haber una transferencia *in vitro* de la resistencia a la vancomicina desde los enterococos hacia los estafilococos (21,22,24). Aunque este mecanismo de resistencia no está claro, se ha propuesto uno que involucra alteraciones en la pared celular estafilocócica. Una de las alteraciones descritas, es una mayor densidad de la pared celular con respecto a las cepas susceptibles (24).

El uso prolongado e indiscriminado de la vancomicina para tratar las infecciones por MRSA, pueden causar en el transcurso del tiempo epidemias de cepas multirresistentes, por lo que deben seguirse los protocolos establecidos en Norteamérica y Europa, así como las recomendaciones que hace el CDC, Atlanta (14). Se ha demostrado en el laboratorio que el pasaje sucesivo en medio con vancomicina luego de veinte veces, creó cepas resistentes y genéticamente estables (15). Al igual que los MRSA estos otros estafilococos con reducida susceptibilidad a la vancomicina tienen una población heterorresistente y esto hace que las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana sean más difíciles de realizar que en otros microorganismos homorresistentes. Los estafilococos con susceptibilidad reducida a la vancomicina no pueden ser detectados con la técnica de difusión en disco de Bauer-Kirby (10).

### E. Resistencia y Determinación de Susceptibilidad Antibiótica:

La susceptibilidad es una característica de las bacterias, que permite que un antibiótico sea capaz de producirle un efecto bactericida o bacteriostático, al estar en contacto con ellas, a una concentración adecuada, que no produzca toxicidad en las células humanas, ni sea desactivado por los líquidos o tejidos de las personas (10,11).

Las bacterias sin embargo, son capaces de adaptarse y crean medios que les permita existir, sin ser afectados por los antibióticos. Esto se conoce como resistencia (11).

La resistencia bacteriana puede ser determinada clínicamente, al evaluar que no se produce la respuesta terapéutica esperada en el paciente a quien se le administró antibióticos, luego de 48 a 72 horas (10,11).

La susceptibilidad y la resistencia también pueden ser determinadas *in vitro* a través de métodos de dilución y de difusión (11).

El método de dilución consiste en incorporar cantidades graduadas de antibióticos en medios bacteriológicos o sólidos; los cuales se inoculan después con la bacteria de prueba. El punto final se toma como la cantidad de antimicrobiano requerida para producir un efecto bactericida o bacteriostático (11).

El método de difusión tiene dos modalidades: en disco o en tira. El método de disco de Bauer-Kirby, es el más utilizado y consiste en aplicar discos de papel filtro impregnados con el medicamento, sobre las superficies de placas de agar, en las que se ha sembrado un cultivo del microorganismo. Se esperan 18 horas y luego se determina el tamaño de la zona de inhibición alrededor del disco, lo cual se relaciona con la actividad del antibiótico contra la cepa de prueba. Proporciona información cualitativa o semicuantitativa, por lo que no es un método muy preciso. Otra modalidad es el E-test, que utiliza una tira de papel impregnado con un gradiente de concentración del antibiótico, el cual se infunde en el medio de inoculación de la bacteria. La zona de inhibición es elíptica y cruza la tira donde está la concentración inhibitoria mínima, lo que perfecciona su precisión (11,15).

### 1. Aparición de Genes Resistentes:

Se han descrito más de 100 genes diferentes de resistencia, cada uno expresando resistencia a un tipo de antibiótico. Muchos de estos nuevos genes se han encontrado primeramente en un plásmido adyacente a otros genes resistentes dentro de una sección llamada integrón. El integrón parece que sirve como un sitio especial para que se adquieran genes y luego se expresen (4).

Entre los antibióticos que son utilizados para las pruebas de susceptibilidad están los siguientes:

- **Cefalosporinas:** inhiben el entrecruzamiento del peptidoglicano por el anillo beta-lactámico, se unen a las ligandinas de penicilina. Actúan contra bacterias gram positivo y gram negativo. Los mecanismos de resistencia que las bacterias han desarrollado hacia estos antibióticos son: producción de beta-lactamasas, alteración de las proteínas ligandinas en gram-positivo y alteración de la permeabilidad de la membrana en gram-negativo (15).
- **Eritromicina:** inhibe la síntesis de proteínas por unión irreversible a la subunidad 50s. Son activas contra estreptococos beta-hemolítico del grupo A; estafilococos en infecciones leves, y otros gram-positivo. Los mecanismos de resistencia que las bacterias han desarrollado hacia este antibiótico son: disminución de la permeabilidad o una mutación que codifica un

cambio en la proteína receptora en los ribosomas 50S, o ser plasmídica y producir la alteración de la subunidad 23S de los ribosomas 50S a causa de una mutación de la adenina (24, 25).

- **Penicilinas:** se ligan a las proteínas ligadoras de penicilina, inhibiéndolas. Las penicilinas naturales son activas contra gram-positivo aerobios y anaerobios; las penicilinas penicilinasas resistentes a *Staphylococcus* sp.; las aminopenicilinas a gram-positivo y mayormente a gram-negativo. Las bacterias se hacen resistentes por producción de beta-lactamasas, alteración de proteínas ligadoras de penicilina; cambios de permeabilidad de la pared celular (16,24,25).
- **Vancomicina:** inhibe la síntesis de peptidoglicano, formando complejos con la D-alanil, D-alanina que es la porción precursora del peptidoglicano. En adición afecta la permeabilidad de la membrana citoplasmática y puede impedir así la síntesis de ARN. Es activa contra Gram-positivo. La resistencia de las bacterias hacia ésta, es mediada por plásmidos y por una proteína citoplásmica única que puede reducir su acceso al sitio de acción (16,24,25).

## 2. Resistencia a Antibióticos Beta-Lactámicos:

Las beta-lactamasas inactivan a los antibióticos beta-lactámicos uniéndose de forma covalente a la porción carbonil del anillo beta-lactámico e hidrolizando su unión covalente. Para protegerse de los antibióticos beta-lactámicos, las bacterias deben producir grandes cantidades de beta-lactamasas capaces de hidrolizarlas antes de que las destruya. En contraste, para que una sola bacteria se proteja, debe restringir la entrada de beta-lactámicos al periplasma y producir cantidades suficientes de beta-lactamasas (25,26).

La ausencia de una membrana externa en bacterias gram-positivo obliga a *Staphylococcus aureus* a producir grandes cantidades de beta-lactamasas para resistir a la penicilina. En consecuencia, los plásmidos de *S. aureus* llevan genes de inducción, así como un gen estructural de beta-lactamasa (13,26).

Esto le da la facultad a la bacteria de producir grandes cantidades de beta-lactamasas cuando es expuesta a la penicilina. Otro mecanismo que utiliza *Staphylococcus aureus* es el de importar un gen que produce beta-lactamasas, para luego codificarlo (13).



### 3. Resistencia a Meticilina o Penicilinas Isoxazólicas:

Luego de la introducción de la meticilina a la terapéutica, se identificaron cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en Inglaterra en 1961. No se reportaron casos en América a no ser por algunos brotes epidémicos y casos esporádicos. Pero, en 1975, el estafilococo resistente a meticilina tuvo un incremento considerable en casos de infección nosocomial y adquirida en la comunidad. Este estafilococo resistente a la meticilina es muy virulento y sus cepas son a menudo resistentes también a las cefalosporinas, eritromicina y tetraciclina (16,27).

Actualmente los estafilococos resistentes a la meticilina se encuentran presentes en la mayoría de los hospitales de muchos países. El microorganismo es muchas veces resistente a otros antibióticos (27).

La resistencia a la meticilina se atribuye a la presencia en la membrana bacteriana de proteínas de unión a la penicilina con baja afinidad a los antibióticos beta-lactámicos, específicamente la proteína de unión secundaria; que se encuentra codificada en la porción cromosómica del gen *mec*. Este sitio de unión alterado, obstaculiza la unión de los antibióticos beta-lactámicos a su blanco en la pared celular (24,25,28).

La meticilina, oxacilina, cloxacilina y nafcilina son penicilinas menos potentes que la penicilina G pero son efectivas contra *Staphylococcus aureus* productores de penicilinasas, ya que son penicilinas resistentes a las penicilinasas, aunque actualmente muchas de las cepas aisladas son "meticilina resistentes" lo que implica resistencia a todas las penicilinas penicilinasas resistentes. La meticilina no se administra por vía oral y puede alcanzar concentraciones plasmáticas de 20 µg/ml (dosis intramuscular 2 g) (24).

### F. Resistencia a los Antimicrobianos $\beta$ -Lactámicos:

#### 1. Inactivación de la droga debido a $\beta$ -lactamasas que dividen el anillo $\beta$ -lactámico:

Las  $\beta$ -lactamasas son inducibles en bacterias Gram-positivas y son sintetizadas en grandes cantidades. En las bacterias Gram-negativas, las  $\beta$ -lactamasas generalmente son constitutivas, están unidas a las células, se encuentran en el espacio periplásmico y se sintetizan en mucho menor cantidad que en las Gram-positivas.

Las  $\beta$ -lactamasas pueden encontrarse codificadas tanto en el cromosoma como en plásmidos.

- **Dificultad en la captación:** se produce en las bacterias Gram-negativas cuando los  $\beta$ -lactámicos no pueden cruzar con facilidad la membrana externa.
- **Alteración del blanco:** se debe a variaciones que se producen en las PBP, generalmente a causa de mutaciones cromosómicas (24,26).

## 2. Efectos colaterales de los $\beta$ -lactámicos:

Los  $\beta$ -lactámicos generalmente son bien tolerados por el organismo y son los antimicrobianos que presentan menor toxicidad directa. Dosis muy altas de penicilinas (mayores a 30 g/día) pueden ser irritantes para el sistema nervioso central. Algunos  $\beta$ -lactámicos pueden causar granulopenia, diarrea y tendencia a hemorragias. El efecto colateral más grave asociado a los  $\beta$ -lactámicos es la alergia. Este efecto se debe a que los productos de degradación del antimicrobiano, como el ácido peniciloico, se combinan con proteínas del paciente y sensibilizan al sistema inmune. Generalmente se utilizan glucocorticoides para suprimir las manifestaciones alérgicas a los  $\beta$ -lactámicos (25,29,30).

#### IV. JUSTIFICACIÓN:

*Staphylococcus aureus* es un patógeno nosocomial muy importante, que se ha aislado previamente en el Hospital General San Juan de Dios (4). *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) se define como aquel que posee una concentración inhibitoria mínima (CIM) a la oxacilina igual o mayor a 4 ug/ml, o un halo de inhibición menor o igual a 10 mm, con disco de oxacilina de 1 ug lo que representaría la resistencia a otros  $\beta$ -lactámicos (17,18,29).

Esta bacteria produce infecciones que son causa de morbilidad y mortalidad, por lo que monitorear la colonización con este microorganismo de los pacientes que van ingresando al área de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios es de vital importancia, ya que esto ayudaría a prevenir la diseminación de una infección dentro del hospital, cuidando de esta forma que la salud del paciente internado empeore y su estadía no se prolongue dentro de éste siendo nocivo para la institución, reduciendo de esta forma costos de hospitalización (31,32).

Además, la vigilancia de la resistencia antimicrobiana en el ambiente hospitalario es fundamental para guiar el tratamiento empírico inicial de los antibióticos que se usan en los pacientes y su posterior manejo en base a los resultados de los cultivos, siendo un problema creciente para la salud pública, que involucra cada día nuevas especies bacterianas y el desarrollo de nuevos mecanismos de resistencia. Este fenómeno que se observa en los laboratorios de microbiología representa un problema clínico y dificulta al personal médico el buen manejo de los pacientes que sufren distintas patologías infecciosas. La información que se obtenga de este estudio será trasladada hacia el Comité de Nosocomiales del hospital con el fin de llevar a cabo una vigilancia de la resistencia antimicrobiana de este microorganismo y a su vez ayudar a los administradores generales y el personal de salud a tomar las medidas apropiadas para controlar y sobre todo prevenir los brotes que puedan suscitarse dentro del hospital.

## V. OBJETIVOS

### A. OBJETIVO GENERAL:

- Monitorear la colonización con *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) en los pacientes que ingresan al área de pediatría del Hospital General San Juan de Dios.

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en muestras nasales de los pacientes muestreados.
2. Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en las distintas salas (Unidad de Terapia Intensiva -UTIP-, Cuidados Intermedios -UCIN-) del área de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios.

## VI. HIPÓTESIS:

No se usará hipótesis por ser un estudio descriptivo.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS:

**A. Universo de Trabajo:** pacientes que ingresen al área de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios (HGSJD). En un período de tiempo aproximado de tres meses.

**B. Muestra:** muestras nasales de 96 pacientes de las distintas áreas de la Pediatría, (siendo los niños a estudiar de ambos sexos y en un rango de edad aproximado de 0-10 años).

### C. Recursos:

#### 1. Recursos Humanos:

##### a. Investigadores:

Br. María Gabriela Abdalla Mansilla

##### b. Asesores:

Químico Biólogo

Lic. Jorge Matheu

Asesor Médico (HGSJD)

Infectólogo de Pediatría

Dr. Carlos Grazioso

#### 2. Recursos Institucionales:

- Área de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios
- Laboratorio Nacional del Ministerio de Salud Pública
- Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios.

#### 3. Recursos Materiales:

##### a. Cristalería

- Portaobjetos
- Tubos de ensayo
- Pipetas pasteur

**b. Reactivos y medio de cultivo**

- Peróxido de hidrógeno
- Colorantes para Gram
- Agar Sangre de Camero
- Agar Manitol Sal
- Agar Müeller-Hinton
- Medios de transporte
- Discos de susceptibilidad con oxacilina

**c. Equipo**

- Cabina de seguridad biológica
- Incubadora
- Autoclave

**d. Control de calidad**

- Cepa ATCC 43300 Oxacilina resistente
- Cepa ATCC 25923 Oxacilina resistente
- Cepa ATCC *S. aureus* 29213 Meticilino susceptible

**e. Instrumentos y otros:**

- Cajas de petrie
- Hisopos estériles
- Asas estériles
- Guantes
- Computadora
- Impresora
- Hojas papel bond tamaño carta

**4. Metodología:**

a. Obtención y procesamiento de muestras:

b. Utilizando un hisopo de algodón estéril humedecido con solución salina al 0.85%, se tomó una muestra del epitelio de la mucosa nasal a los pacientes que ingresaron al área de Pediatría .

- c. Se inocularon las muestras en una caja de petrie con agar Sangre de Carnero, incubado a 35°C durante 24-48 horas en jarra con candela (ambiente microaerofílico), seguidamente se leyeron las cajas de petrie identificando colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.
- d. Posteriormente se llevó a cabo una coloración Gram de las colonias sospechosas para identificar los cocos Gram-positivo.
- e. A las colonias de cocos gram-positivo obtenidas en agar Sangre de Carnero se les realizó la prueba de catalasa con peróxido de hidrógeno al 3%, tomando como positivo la producción de efervescencia.
- f. Al ser ésta prueba positiva, se realizó la prueba de coagulasa con plasma humano; conjuntamente se inoculó una asada en agar Manitol Sal incubando a 37°C por 24 horas; con el objetivo de purificar la colonia de *S. aureus*.
- g. Posteriormente se tomó una asada de la colonia del agar Manitol Sal realizando una suspensión directa de colonia en solución salina estéril hasta obtener una turbidez 0.5 Mcfarland, dejando reposar por 15 minutos.
- h. Con hisopo estéril humedecido con la suspensión anterior, se inoculó en el medio de Müller-Hinton dejando reposar por 15 minutos.
- i. En el medio de cultivo se colocó un disco de oxacilina, para clasificar las cepas según el diámetro del halo obtenido como MRSA (<12 mm) o MSSA (>12 mm). Dentro de las penicilinas resistentes a la  $\beta$ -lactamasa para usar en estafilococos, se puede probar ya sea la oxacilina o la meticilina y sus resultados pueden ser aplicados a las otras penicilinas resistentes a la penicilinas, tales como a la cloxacilina y a la dicloxacilina. Es preferible probar con oxacilina ya que es más resistente a la degradación durante el almacenaje y porque es más probable que detecte a las cepas heterorresistentes de estafilococos (33,34).
- j. A las cepas que resultaron ser MRSA se les evaluó su perfil de resistencia antibiótica en el medio de cultivo anterior con los discos recomendados por la NCCLS para *S. aureus*, incubando a 35°C por 24 horas.
- k. Luego de transcurrido el tiempo se leyeron los diámetros de los halos de inhibición, comparando con las tablas específicas de cada antibiótico establecido por la NCCLS (33,34).
- l. Se interpretaron los resultados obtenidos de la susceptibilidad antibiótica para *S. aureus* meticilino resistente.



#### D. Diseño de investigación:

1. **Tipo de estudio:** Descriptivo y transversal.
2. **Muestreo:** por conveniencia (no probabilístico)  
Tomando como casos a estudiar todos los niños que ingresen a las salas de pediatría y queden internados.
3. **Tamaño de muestra (n):** 96 niños de ambos sexos, teniendo un rango de edad aproximado de 0 a 10 años.

- Información previa: en niños

- Niños que ingresan:  $\begin{cases} p = 0.5 \\ q = 0.5 \end{cases}$

$$95\% = z = 1.96$$

$$n = \frac{p \cdot q \cdot NC^2}{d^2} = \frac{(0.5)(0.5)(1.96)^2}{(0.1)^2} = 96 \text{ niños}$$

NC: Nivel de confianza

d: límite de error (máximo de 10%)

4. **Variables de interés:** Cultivo de hisopado nasal inicial  
Cultivo de hisopado nasal a las 72 horas de ingreso

**Análisis de Resultados:** utilizando porcentajes y gráficas de los resultados que se obtengan de los cultivos positivos y los obtenidos de las susceptibilidades antibióticas.

## VIII. RESULTADOS:

Se realizó un estudio descriptivo transversal, tomando como grupo a estudiar los niños internados en las áreas de cuidados intensivos del Hospital General San Juan de Dios (UTIP e intermedios), a éstos niños se les realizó un hisopado nasofaríngeo al momento de ingresar al servicio y un segundo hisopado a las 72 horas de haber ingresado.

El número de niños que se analizó fue de 96, debido a que la mayor parte de los niños que ingresan a estos servicios de cuidados intensivos presentaron un estado crítico de salud, se tuvo dificultad al momento de las tomas de muestra, viéndose prolongado el tiempo que se tenía estipulado para el análisis de muestras, y así también para poder llegar a el número de 96 pacientes que llenaran los requisitos de tener los dos hisopados nasofaríngeos; los 96 niños que formaron parte del estudio cumplieron los criterios de inclusión y exclusión.

El total de niños que se analizó en ambos servicios de pediatría fue de 96, de éstos se obtuvieron 236 aislamientos, aislándose una gran variedad de microorganismos, de los cuales la mayor parte no son propios de la microbiota normal de la nasofaringe (Tabla 4, Anexos).

En la tabla 1 se muestra la distribución y variedad de los distintos microorganismos que se obtuvieron de las muestras nasales, así mismo el número de pacientes que se vieron afectados por éstos. Es importante resaltar que uno de los microorganismos que se aisló con mayor frecuencia fue *S. epidermidis*, seguido por bacilos gram negativo no fermentadores, *K. pneumoniae* y *S. aureus*.

Tabla 1. Microorganismos aislados de muestras nasales

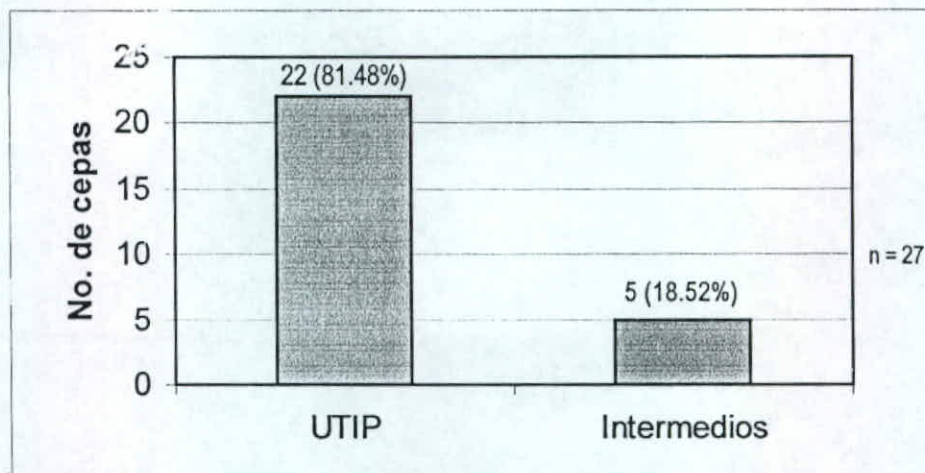
Microorganismo	No. de aislamientos	Porcentaje	No. de pacientes
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	56	24	39
Bacilo gram negativo no fermentador	55	23	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29	12	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	11	19
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	25	11	17
<i>Streptococcus sp.</i>	12	5	7
<i>Escherichia coli</i>	5	2	4
No crecimiento	5	2	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	4
<i>Pseudomonas sp.</i>	4	2	3
<i>Candida sp.</i>	3	1	2
<i>Klebsiella ozanae</i>	3	1	2
<i>Candida albicans</i>	2	1	2
<i>Enterobacter sp.</i>	2	1	2
<i>Enterococcus sp.</i>	2	1	1
<i>Klebsiella sp.</i>	1	0	1
<i>Streptococcus viridans</i> $\alpha$ -hemolítico	1	0	1

n = 96 pacientes

No. de aislamientos = 236

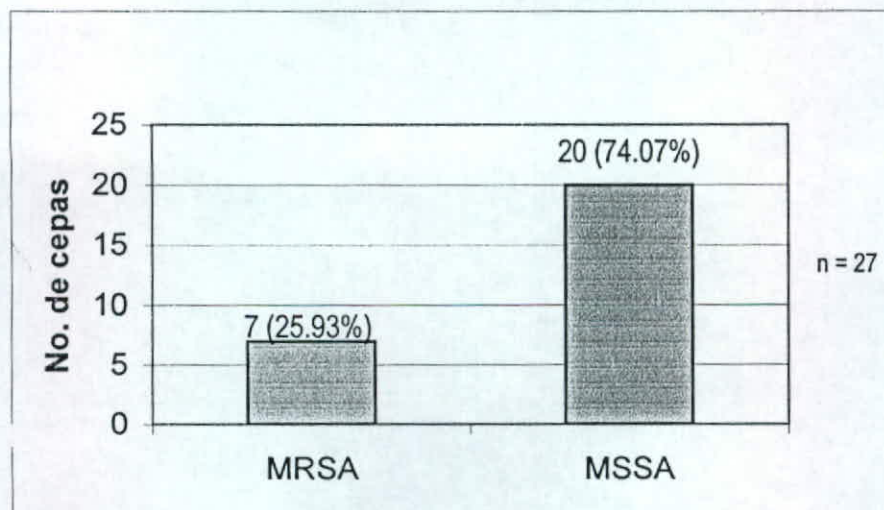
En la gráfica 1 se observa la distribución de las cepas de *S. aureus* que fueron aisladas en los dos servicios analizados de pediatría; de las 27 cepas que se aislaron de *S. aureus*, 22 (81.48%) fueron obtenidas de los pacientes de la Unidad de Terapia Intensiva de Pediatría (UTIP); de los pacientes de Cuidados Intermedios se aislaron 5 cepas (18.52%).

Gráfica 1. Número de cepas aisladas de *S. aureus* en la Unidad de Terapia Intensiva (UTIP) y Cuidados Intermedios (UCIN)



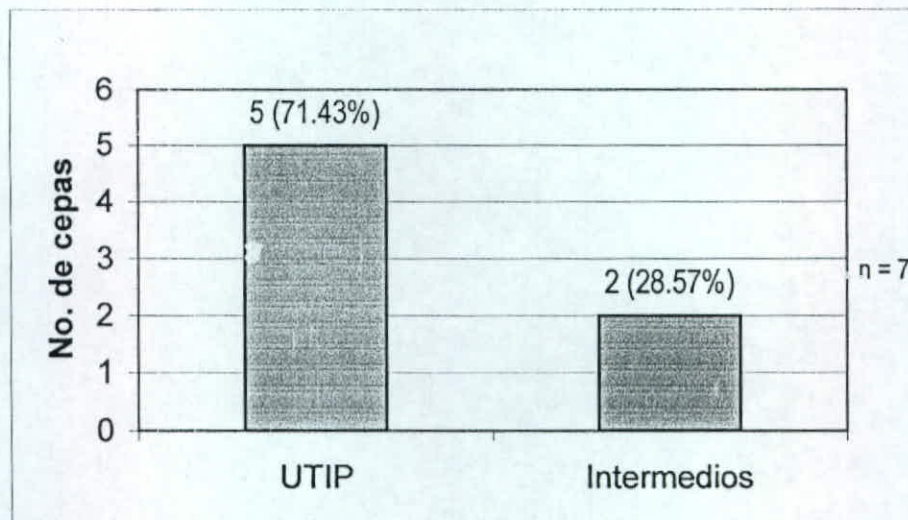
A las cepas que se obtuvieron de *S. aureus*, luego de ser identificadas les fue evaluada su resistencia frente al antibiótico oxacilina, por medio del método de difusión en disco y así poder clasificarlas como *S. aureus* resistente a la metilina (MRSA) o *S. aureus* sensible a la metilina (MSSA). En la gráfica 2 se observa el número de cepas MRSA que obtuvieron en el estudio.

Gráfica 2. Número de cepas obtenidas de *S. aureus* metilino resistente (MRSA) y *S. aureus* metilino sensible (MSSA) en UTIP y Cuidados Intermedios



En la gráfica 3, se muestra la distribución de las cepas MRSA en los servicios de pediatría que fueron analizados; cabe resaltar de que siempre se observa mayor distribución en UTIP

Gráfica 3. Número de cepas de MRSA aisladas en UTIP y Cuidados Intermedios



De las 27 cepas de *S. aureus* que fueron aisladas en ambos servicios de Pediatría, 22 de éstas corresponden a UTIP, a éstas cepas se les evaluó con el antibiótico oxacilina para clasificarlas como MRSA o MSSA. De las 22 cepas analizadas, 5 (22.7%) presentaron resistencia hacia éste antibiótico; las 5 cepas fueron evaluadas posteriormente con los antibióticos sugeridos para *S. aureus* por la NCCLS.

En el caso de Cuidados Intermedios se aislaron 5 cepas de *S. aureus*, 2 (40%) de éstas cepas presentaron resistencia hacia la oxacilina, para luego ser evaluadas con los antibióticos sugeridos para *S. aureus* por la NCCLS.

En la tabla 2 y 3 se observan los resultados obtenidos de la susceptibilidad antibiótica la cual fue evaluada por el método de difusión en disco.

**Tabla 2. Resultados de susceptibilidad antibiótica de cepas de MRSA en UTIP**

Antibiótico	% de cepas resistentes
Penicilina G	100
Oxacilina	22.7
Cefoxitina	100
Vancomicina	0
Eritromicina	100
Ciprofloxacina	100
Clindamicina	100
Trimetoprim/sulfametoxazol	0
Cloranfenicol	40

**Tabla 3. Resultados de susceptibilidad antibiótica de cepas de MRSA en Cuidados Intermedios**

Antibiótico	% de cepas resistentes
Penicilina G	100
Oxacilina	40
Cefoxitina	100
Vancomicina	0
Eritromicina	100
Ciprofloxacina	50
Clindamicina	100
Trimetoprim/sulfametoxazol	0
Cloranfenicol	50

Estas 7 cepas de MRSA, fueron aisladas de 5 pacientes (5.21%) de los 96 que entraron al estudio.

La información de los cinco pacientes a los que se les aisló MRSA fue tomada de las historias clínicas de cada uno de ellos, ésta se muestra en la tabla 4:

Tabla 4. Características de los pacientes analizados a los que se les aisló MRSA

No. de paciente	Edad	Sexo	Raza étnica	Diagnóstico	1er. Aislamiento (hisopado basal)	2do. Aislamiento (hisopado a las 72 horas)	Tratamiento durante la estadía en el hospital
51	1 mes	M	Ladino	DLA <sup>a</sup> shock hipovolémico	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MRSA/ <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ampicilina, amikacina, gentamicina, cefotaxime, eritromicina
58	2 años	F	Ladino	DPC <sup>b</sup> DLA <sup>a</sup>	MRSA	MRSA	Ampicilina, gentamicina
60	9 años	F	Ladino	Masa intracraneal	MRSA	xxxx	Gentamicina, cefalotina
79	1 mes	M	Indígena	Neumonía	MRSA	MRSA	Cefotaxime, cefepime, amikacina, imipenem
82	8 meses	F	Indígena	Neumonía	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRSA	Amoxicilina, amikacina, cefotaxime

<sup>a</sup> DLA: diarrea líquida aguda, <sup>b</sup> DPC: desnutrición proteico calórica, xxxx: no hubo crecimiento bacteriano

De éstos 5 pacientes (5.21%), a 3 de ellos (3.13%) les fue aislado MRSA en el hisopado que se les hizo al momento de ingreso, y los otros dos pacientes (2.08%) en el hisopado que se realizó a las 72 horas de haber ingresado al servicio.

De éstos solamente 1 paciente (1.04%) tuvo crecimiento de MRSA acompañado de *Klebsiella pneumoniae*, microorganismo que se aísla frecuentemente de las muestras de los pacientes de los intensivos de los hospitales, 4 pacientes (4.16%) tuvo crecimiento monomicrobial para MRSA.

Todos los aislamientos de MRSA en ambas salas estudiadas fueron susceptibles a vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazol. De las 7 cepas analizadas todas presentaron resistencia hacia la penicilina, cefoxitina, eritromicina y clindamicina, 6 cepas (85.7%) presentaron resistencia hacia la ciprofloxacina y 1 cepa (14.3%) fue susceptible hacia éste antibiótico.

Con respecto al cloranfenicol 3 cepas (42.9%) presentaron resistencia y 4 cepas (57.1%) presentaron susceptibilidad hacia éste.

De las 7 cepas de MRSA, solamente 1 de las cepas (14.28%) presentó resistencia inducible a clindamicina la cual se detectó usando el método de difusión, en la tabla No. 5 se muestran los resultados de la susceptibilidad antibiótica de las 27 cepas de *S. aureus* que se analizaron en UTIP y Cuidados Intermedios.

**Tabla 5. Resultados susceptibilidad antibiótica de *S. aureus* por medio del método de difusión en disco en UTIP y Cuidados Intermedios**

Antibiótico	No. de cepas analizadas (n = 27)	% de resistencia
Penicilina G	7	100
Oxacilina	27	25.9
Cefoxitina	7	100
Vancomicina	7	0
Eritromicina	7	100
Ciprofloxacina	7	85.7
Clindamicina	7	100
Trimetoprim/sulfametoxazol	7	0
Cloranfenicol	7	42.9



Además de haber analizado las cepas de *S. aureus* se obtuvo como información adicional y de gran importancia cepas de *Klebsiella pneumoniae* que se fueron obteniendo de las muestras nasales en un número considerable, esto se realizó con el objetivo de evaluar la resistencia antibiótica (BLEE-  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y BLEA-  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado) de éste microorganismo que se aísla frecuentemente de las muestras de los pacientes de los intensivos de éste hospital.

Según los resultados que se observan en la tabla 1, se tuvo un total de 29 cepas (12%) de éste microorganismo en un número de 21 pacientes en UTIP y Cuidados Intermedios.

De éstas 29 cepas, solamente se pudo analizar con susceptibilidad antibiótica 15 cepas, ya que el resto de éstas no se pudieron aislar de los medios de transporte. Éstas cepas fueron identificadas como *Klebsiella pneumoniae* para luego ser evaluadas con los antibióticos sugeridos por la NCCLS; los resultados que se obtuvieron pueden ser observados en la tabla 6, de la cual es importante observar el alto porcentaje de BLEE que se obtuvo en éstas cepas; de las 15 que fueron analizadas, 12 (80%) presentaron BLEE y solamente 3 cepas (20%) presentaron BLEA, éste número de cepas fueron aisladas de ambos servicios (UTIP y cuidados intensivos).

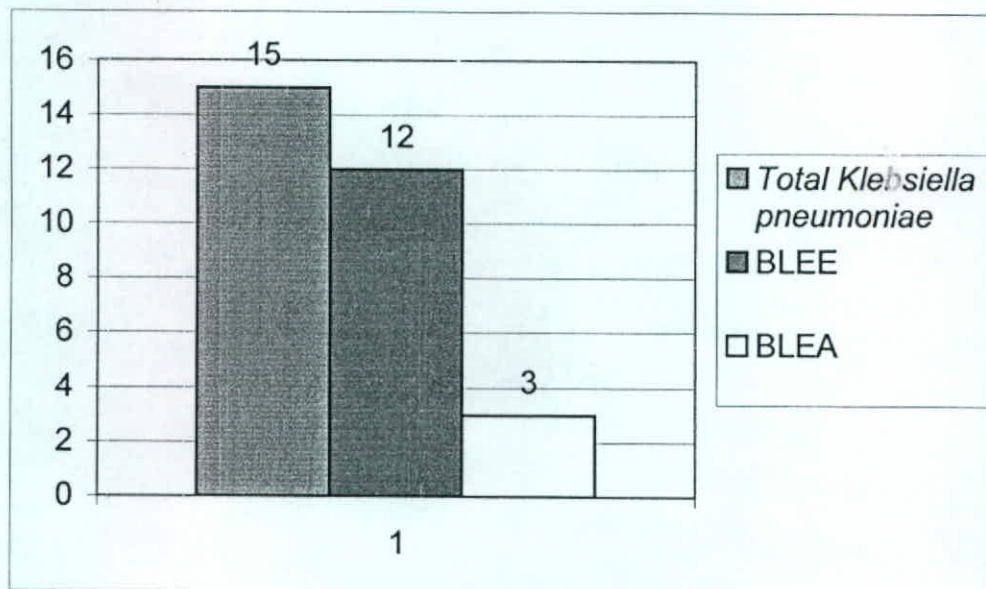
**Tabla 6. Resultados susceptibilidad antibiótica para *K. pneumoniae* por medio del método de difusión en disco en UTIP y Cuidados Intermedios**

Antibiótico	No. de cepas analizadas (n = 15)	%R	%I	%S
Ampicilina	15	100	0	0
Amoxicilina/Ác. Clavulánico	15	40	20.0	40.0
Cefepime	15	26.7	20.0	53.3
Cefotaxime	14	42.9	28.6	28.6
Cefoxitin	15	13.3	6.7	80.0
Ceftazidime	15	73.3	6.7	20.0
Cefalotina	15	80	6.7	13.3
Gentamicina	15	73.3	0	26.7
Ciprofloxacina	15	0	0	100
Trimetoprim/sulfametoxazol	15	60.0	0	40.0
Cloranfenicol	15	66.7	0	33.3
Ticarcilina	15	100	0	0
Cefuroxima sódica	15	53.3	6.7	40.0
Beta-lactamasa	15	80.0		20.0

%R= porcentaje de cepas resistentes, %I= porcentaje de cepas de susceptibilidad intermedia, %S= porcentaje de cepas susceptibles

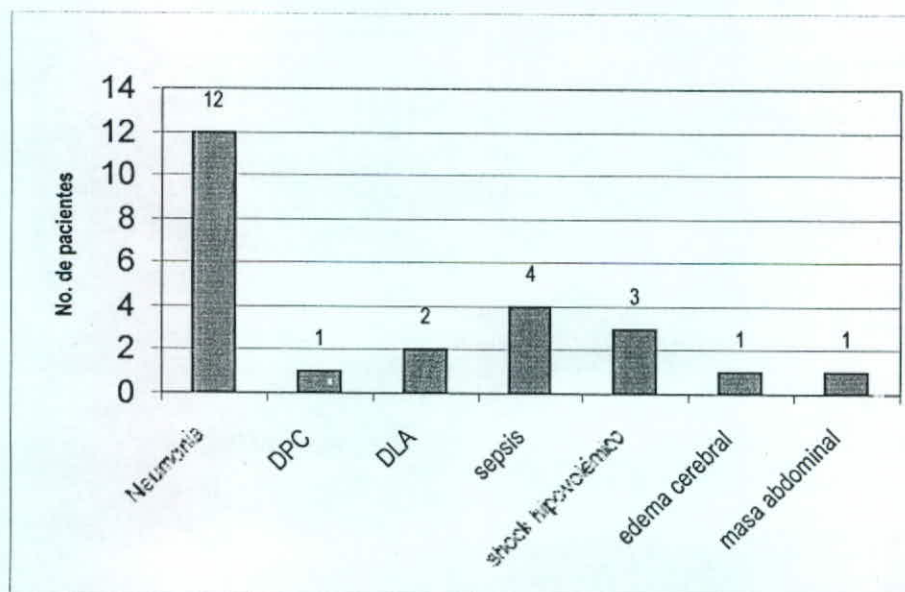
En la gráfica 5 se observa el total de cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en ambos servicios, así mismo de estas se observa el número de cepas que presentaron BLEE y las que presentaron BLEA.

Gráfica 5. Número de cepas de *K. pneumoniae* aisladas de UTIP y Cuidados Intermedios



En la gráfica 6 se observan las distintas patologías que afectaban a los niños ( $n=21$ ) a los que se les aisló *K. pneumoniae*, mostrando así mismo la distribución de éstas.

Gráfica 6. Patologías de los pacientes a los que se les aisló *K. pneumoniae*



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Del total de aislamientos que se obtuvieron de las muestras nasales se aisló una gran variedad de microorganismos, de estos aislamientos los de importancia para el estudio fueron los de *S. aureus*, obteniendo un total de 27 cepas aisladas.

Con el hisopado que se realizó en el momento de ingreso del paciente a los servicios se identificó a los que son portadores nasales de éste microorganismo; según la tabla 1 se obtuvo un total de 27 aislamientos (11%) de *S. aureus* en 19 (19.8%) pacientes de los 96; éstos aislamientos fueron obtenidos de ambas salas que fueron analizadas. Es importante identificar desde un principio a los portadores nasales de *S. aureus*, ya que éste microorganismo aparte de ser parte de la microbiota nasal del hospedero es una de las causas más comunes de las infecciones epidémicas adquiridas en los hospitales que puede resultar en una sustancial morbilidad y mortalidad (35,36,37). Además de esto las infecciones de *S. aureus* adquiridas en la comunidad se están volviendo comunes, y este microorganismo cada vez se está volviendo multirresistente, ya que según estudios; el número de cepas multirresistentes de *S. aureus* están siendo reportados con mayor frecuencia alrededor del mundo, incluyendo aislamientos que son resistentes a meticilina, lincosamidas, macrólidos, aminoglicósidos, fluoroquinolonas o combinaciones de éstos antibióticos (14,17). Los glicopéptidos son los antibióticos que tienen mayor actividad en contra de cepas de MRSA, pero la emergencia de cepas de *S. aureus* con resistencia intermedia hacia los glicopéptidos indica que se está dando un desarrollo de cepas resistentes a todos los antibióticos. Estas consecuencias tan severas de una infección con *S. aureus* nos indican la importancia de la prevención de éstas y además evitar el mal uso de los antibióticos aún disponibles (36,38,39).

Según la gráfica 1, la sala que presenta mayor número de aislamientos es UTIP ya que de los 27 aislamientos que se obtuvieron de *S. aureus*, 22 (81.48%) fueron aisladas de los pacientes de éste servicio, mientras que del servicio de cuidados intermedios solamente fueron 5 cepas (18.52%). Esto podría atribuirse principalmente a que siempre hay un mayor número de pacientes en UTIP que en cuidados intermedios, lo cual es preocupante debido a que en UTIP el tipo de pacientes que ingresa está en estado mucho más crítico y la mayoría de estos pacientes están conectados a respiradores, tiene puestos catéteres, etc., a comparación de los pacientes que están en cuidados intermedios que muchas veces están en observación médica, lo cual los hace más susceptibles a los pacientes de UTIP a cualquier enfermedad o microorganismo oportunista.

En la gráfica 2 se observa la respuesta de estas 27 cepas de *S. aureus* hacia el antibiótico oxacilina, de las 27 cepas, 7 (25.93%) fueron identificadas como MRSA y 20 (74.07%) como *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (MSSA); los resultados obtenidos coinciden con estudios realizados en otros países; en Estados Unidos conforme han pasado los años, de los aislamientos de *S. aureus* nosocomiales aproximadamente un 25% son de MRSA (19). La frecuencia que se obtuvo de cepas MRSA en este estudio (25.93%) es mayor a los resultados obtenidos en España, quienes encontraron un 15.4% de cepas MRSA (40). Según otro estudio realizado con personal de la consulta externa de adultos del Hospital General San Juan de Dios, se obtuvo un 74% de cultivos positivos para MRSA (4), lo cual es de mucha importancia para el Hospital y el personal sanitario.

Las 7 cepas de MRSA fueron susceptibles a la vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazol, lo que coincide con los resultados de un estudio en el que se evaluó la respuesta antibiótica de las cepas de *S. aureus*, las cuales fueron susceptibles *in vitro* a trimetoprim-sulfametoxazol. Según estudios infecciones serias han sido tratadas exitosamente con trimetoprim-sulfametoxazol, a pesar de que éste antibiótico es inferior a la vancomicina, por lo que el uso de éste puede ser considerado como último recurso en los pacientes que no toleran la terapia con vancomicina (19,38,41,42).

Con respecto a los resultados con el antibiótico vancomicina son de vital importancia debido a que en los últimos tiempos se ha descrito un fenómeno de disminución de susceptibilidad de varias especies de estafilococos a estos antibióticos, incluyendo *S. aureus*; entre los resultados que se obtuvieron en este estudio no se observó ninguna resistencia intermedia hacia la vancomicina (29,42,43,44).

Como era de esperar, las 7 cepas presentaron resistencia hacia la penicilina; todavía se evalúa y se reporta la respuesta de *S. aureus* hacia la penicilina, según los paneles de antibióticos recomendados por la NCCLS, debido a que se considera que aproximadamente de un 80 a 90% de los aislamientos actuales de *S. aureus* son resistentes a la penicilina sobre todo en cepas hospitalarias teniéndose un pequeño porcentaje de cepas de *S. aureus* penicilina-susceptibles (34,45,46).

Las 7 cepas presentaron resistencia hacia eritromicina y clindamicina, 6 cepas (85.7%) presentaron resistencia hacia la ciprofloxacina y solamente una cepa (14.3%) fue susceptible hacia ésta. Solamente una de las cepas presentó resistencia inducible a clindamicina. Es importante que los microbiólogos tomen en cuenta que los MRSA son frecuentemente resistentes a otros antibióticos, incluyendo otros beta lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, clindamicina, fenicoles, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclina. (18,40,47).

La observación de múltiple resistencia debe alertar sobre la posibilidad de meticilino resistencia. Sin embargo se han aislado cepas de MRSA sin resistencia a otros antibióticos en pacientes internados y de la comunidad (47,48,49).

Los MRSA, deben informarse como resistentes a todos los cefemes y otros beta lactámicos tales como ampicilina/sulbactam, amoxicilina/clavulánico, ticarcilina/clavulánico, piperacilina/tazobactam e imipenem, independientemente de los resultados de susceptibilidad *in vitro* obtenidos con estos agentes. Esto se debe a que hay muchos casos documentados de pobre respuesta al tratamiento de MRSA con éstas drogas y además no se han presentado datos clínicos que evalúen la eficacia del tratamiento de los MRSA con los beta lactámicos enumerados (32,46,50).

Aunque en los últimos tiempos se ha documentado en Japón y en Estados Unidos, el hallazgo de cepas MRSA con susceptibilidad reducida a la vancomicina, éste antibiótico, con quien se tiene una mayor experiencia clínica y la teicoplanina constituyen en la actualidad los fármacos de primera elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cepas MRSA. La teicoplanina posee una vida media más larga y puede administrarse por vía intramuscular, sin requerir control de dosis; también presenta menos efectos secundarios (46,51,52).

Se ha incorporado el criterio de informe de la resistencia inducible a clindamicina para los aislamientos de *S. aureus*. Los aislamientos resistentes a macrólidos de *S. aureus* pueden tener resistencia inducible a clindamicina (metilación del rRNA23s codificada por el gen *erm*, también denominado  $MLS_B$  por macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del tipo B). Con éste tipo de cepas se podría decir que aparenta ser resistente a clindamicina basado en la detección de la resistencia inducible a clindamicina. En algunos pacientes clindamicina podría ser aún efectiva (52).

En la tabla 4 se observa las características de cada paciente al que se le aisló MRSA; no se encontró ninguna relación de este microorganismo con la edad y sexo del niño. De los cinco pacientes, tres tuvieron MRSA desde el momento de ingreso al servicio, lo cual sugeriría que son cepas MRSA de la comunidad, sin embargo se debe tomar en cuenta que muchas veces la información que es obtenida de las historias clínicas no es completa en cuanto a hospitalizaciones previas, ya que no se pudo entrevistar a los padres de los niños. Además el patrón de resistencia antibiótica de las cepas que fueron obtenidas tanto en el primer hisopado como en el segundo es el mismo, como se puede ver en la gráfica 4 éstas cepas se consideran multirresistentes; éstos datos sugieren que las cepas que se obtuvieron de MRSA son cepas hospitalarias. La observación de múltiple resistencia debe alertar sobre la posibilidad de cepas de MRSA hospitalario de acuerdo a resultados obtenidos en estudios de otros países; mientras

que se han aislado cepas de MRSA sin resistencia a otros antibióticos en pacientes internados y de la comunidad (18,41,47,48,49).

De los pacientes a los que se les aisló MRSA desde el momento de ingreso, figura una niña que fue recogida de la calle, de la cual no se tenían datos anteriores de su historia clínica. De los dos pacientes a los que se les aisló MRSA hasta el segundo hisopado, ambos estaban en estado crítico y a su vez se les aisló *K. pneumoniae* el cuál también es un microorganismo patógeno que forma parte de la microbiota de las áreas de cuidado intensivo de los hospitales. Se considera que todas las cepas de MRSA son cepas hospitalarias, lo cual es un problema que se debe de controlar en el ambiente hospitalario debido a que éste es uno de los microorganismos que está causando impacto en las infecciones nosocomiales alrededor del mundo, por lo tanto se debe tomar en cuenta el seguimiento clínico de los pacientes con sospecha de ser portadores de MRSA (41,47).

Los riesgos que sugieren una colonización con MRSA son: el estado crítico de los pacientes teniendo éstos una respuesta inmune débil, rotación constante del personal médico en las distintas áreas, el uso de catéteres, todos estos niños tenían puestos respiradores y estaban intubados teniendo la mayoría dificultad para respirar, según estudios realizados existen muchos factores de riesgo como para adquirir MRSA comunitario entre los que figuran fumar, infecciones recientes de piel, asma, virus de inmunodeficiencia humana, uso de drogas intravenosas, haber estado en una casa de cuidados para niños, etc. (38,42,48,53,54).

Como se puede observar en la tabla 4, desde el momento que ingresan los niños al servicio tienen una amplia cobertura antibiótica que pretende ser eficaz contra cualquier microorganismo patógeno; en el caso de éste microorganismo la cobertura antibiótica no es eficaz debido a que se considera como un microorganismo multirresistente y ninguno de los antibióticos dados tienen efecto contra las cepas de MRSA, no teniendo resultados prometedores. Un dato importante que se obtuvo por medio del personal médico del hospital es que se trata de evitar el uso indiscriminado de vancomicina, lo cual es muy buena práctica, evitando multirresistencia total.

Las cepas de MRSA 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, caso que se observó en los cinco pacientes a los que se les aisló MRSA, pudiéndose extender a otros pacientes principalmente por medio de las manos del personal sanitario (infección cruzada). A medida que progresa un brote epidémico, aumenta el número de portadores nasales de MRSA que constituyen a menudo, la propia fuente

de infección. La transmisión a través del entorno inanimado puede ser un factor importante, especialmente en la áreas de las unidades de cuidados intensivos (UTIP) (40,53,54,55).

Varios estudios han demostrado que la eliminación de la portación de este microorganismo en las fosas nasales, que es el principal reservorio de éste microorganismo, reducen la incidencia de infecciones por MRSA (56).

A través de estudio se puede decir que la portación nasal ha sido identificada como un factor de riesgo importante para adquirir infecciones por MRSA. En los casos en que se identifican a los portadores nasales de MRSA, se pueden controlar las infecciones de éste microorganismo mediante al aplicación de mupirocina tópica en las fosas nasales anteriores. Sin embargo su uso debe restringirse a los pacientes con infecciones recurrentes por MRSA, para evitar la resistencia hacia la mupirocina (56).

La infección intrahospitalaria por MRSA o MSSA continúa siendo un grave problema para los microbiólogos de nuestro país como a los del restos del mundo, el cual no ha sido resuelto (41,44).

Por lo pronto la aplicación de medidas, tales como el aislamiento del paciente con infección por MRSA, el lavado de manos efectivo con detergentes y alcohol, así como el uso cuidadoso de guantes puede interrumpir la cadena de transmisión tanto en el hospital o permitir que se disparen en la comunidad (44).

Con respecto a la información adicional que se obtuvo con las cepas las cepas de *K. pneumoniae* que se aislaron, 80% presentaron betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y 20% presentaron betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), en *K. pneumoniae* las betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) son parte de su resistencia natural y presentan un comportamiento variable hacia las cefalosporinas de primera y segunda generación, lo cual indica que no son multirresistentes, teniendo todavía alternativas respecto a tratamiento, pero la mayoría de las cepas ya han adquirido mayor resistencia, como se puede ver en la tabla 6, las cepas de *K. pneumoniae* que presentan betalactamasas de espectro extendido (BLEE) presentan multirresistencia, lo cual es preocupante porque son cepas que se aíslan de los intensivos y sobre todo de pacientes pediátricos.

La detección de betalactamasas se recomienda sobre todo en cepas de *K. pneumoniae* ya que éstas son una de las cepas que más producen éstas enzimas, aparte de *E. coli* y *K. oxytoca*. Los microorganismos que son BLEE positivos varían en la susceptibilidad a diferentes oximino-betalactámicos, para algunos aparentemente pueden presentar *in vitro* sensibilidad a varios antibióticos, pero al momento de usarlos con los pacientes no tienen ninguna efectividad. Para las infecciones causadas por este tipo de microorganismos, el tratamiento con imipenem o

meropenem ha sido asociado con los mejores resultados en tratamiento. Cefepime y piperacilina-tazobactam han sido menos exitosos. Ceftriaxone, cefotaxime y ceftazidime han fallado la mayoría de veces, aunque *in vitro* el microorganismo muestre susceptibilidad (57).

También se debe tener cuidado con el uso de los pocos antibióticos que todavía actúan en contra de *K. pneumoniae* resistente a betalactámicos, ya que al incrementar el uso de imipenem puede ser seguido de la aparición de cepas de *K. pneumoniae* resistentes a imipenem.

Para las cepas de *K. pneumoniae* que presentan betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) debido a que es una resistencia natural de éstas cepas hacia las penicilinas, y tienen un comportamiento variable para cefalosporinas de primera y segunda generación, indica que no han adquirido ningún tipo de multiresistencia, por lo tanto con éstas cepas no se recomienda el uso de antibióticos de últimas generaciones como primera elección para el tratamiento de personas con infecciones con éste microorganismo.



## X. CONCLUSIONES:

- A. Se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) en las muestras nasales de los pacientes de los servicios de pediatría (Unidad de Terapia Intensiva –UTIP-, Cuidados Intermedios -UCIN-).
- B. De las 27 cepas de *S. aureus* aisladas, 7 (25.93%) fueron identificadas como MRSA y 20 (74.07%) como MSSA.
- C. Todas las cepas MRSA presentaron el mismo patrón de susceptibilidad por lo que se consideran hospitalarias.
- D. El mayor número de aislamientos de MRSA se observó en la Unidad de Terapia Intensiva (UTIP) (71.43%) y en cuidados intermedios fue menor el número de éstos (8.57%).
- E. El 100% de las cepas de MRSA fueron susceptibles a vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazole.
- F. Las cepas de MRSA no presentaron resistencia intermedia o total hacia la vancomicina.
- G. De las cepas de *K. pneumoniae* que se aislaron, 80% presentaron betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y 20% presentaron betalactamasas de espectro ampliado (BLEA).

## XI. RECOMENDACIONES:

- A. Entre las precauciones que se deben tener para evitar la diseminación de cepas MRSA son: lavado de manos antes y después de cualquier contacto con infectados y el empleo de barreras que eviten el contacto con fluidos o sangre, como guantes de un solo uso y bata.
- B. Determinar con una muestra mayor, los factores de riesgo para la colonización con este microorganismo.
- C. Capacitar al personal del hospital acerca de la infección causada por MRSA, su impacto en los pacientes y en el hospital, como prevenirla y controlarla.
- D. Trabajar en conjunto microbiólogos, médicos y personal de enfermería para mantener el control de MRSA en el Hospital General San Juan de Dios, y así mismo proveer toda información de relevancia al Comité de Infecciones Nosocomiales del hospital.
- E. Desinfectar adecuadamente los servicios de cuidados intensivos, esto para procurar una menor diseminación de las cepas de *K. pneumoniae*.
- F. Insistir en el uso adecuado de los antibióticos.

14. Wagenvoort, M. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) en la población general. Regional Public Health Laboratory. 1997, Volumen 2, Pg 96-97.
15. Trexler M. *et cols.* Antibacterial therapy. Principles of selection and use of antibacterial agent. Infectious Disease clinic of North America, June 2000;14(2).
16. Wilhelm M.P., Estes L. Vancomycin. Mayo Clin Proc. 1999;74:928-935.
17. Patterson, J. En torno a la situación real de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. The Lancet 1996; 348:836-37.
18. Duckworth, G. Diagnosis and management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. BMJ 1993;307:1049-52.
19. Chambers, Henry F. Methicillin Resistance in *Staphylococci*: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. Clin Microbiol Rev 1997; 10:(4)781-91.
20. Moreirz, B. and Daum-Robert. Antimicrobial Resistance in *Staphylococci*-Antimicrobial Resistance in Pediatrics. In Pediatrics Clinics of North America; 1995;42(3):619-43.
21. Hiramatsu, K; Hanaki, H; Ino, T; et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicro Chemoter 1997;40:135-6.
22. Smith, T; Pearson, M; Wilcox, K. et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. In The N Eng J Med 1999;340(7)493-501.
23. Sieradzki, K; Roberts, R; Haber, S. et al. The Development of Vancomycin Resistance in a Patient with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. N Eng J Med 1999; 340(7):517-523.
24. Burke A. Antibiotic Resistance. Medical Clinic of North America 84(6):November, 2000.
25. Sanders Ch. *Et cols.* B-lactamase resistance. Supplement to u.s pharmacist. July 1996.
26. Witte W, Cuny C, Braulke C, Heuck D, Klare I. Widespread dissemination of epidemic MRSA in German hospitals. *EuroSurveillance* 1997; 2: 25-8.
27. Van Dijk, Y. *et al.* Genotyping of Clinical Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolates in a Dutch Teaching Hospital. Journal of Clinical Microbiology, February 2002,p. 663-665, Vol. 40, No. 2 DOI: 10.1128/JCM.40.2.663-665.200
28. Michel, M. 1997. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin resistant Enterococci: Therapeutic Realities and Possibilities Lancet. 349: 1901-1906.
29. Tallent, S. Vancomycin Susceptibility of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Causing Nosocomial Bloodstream Infections. Journal of Clinical Microbiology, March 2002, p. 1048-1052, Vol. 40, No. 30095-1137/02/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.40.3.1048-1052.2002 Copyright © 2002, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

30. Kaats Gw; Seo Sm. Mechanism of fluorquinolone resistance in genetical related strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997; 41:2733-2737.
31. Bierbaum, G; Fuchs, K; Lenz, W; Szekat, C; Sahl, H-G. Presence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to Vancomycin in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18:691-696.
32. Mendoza Ticona, C, et al. *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente (MRSA): Colonización y susceptibilidad en pacientes y personal de salud de un hospital de referencia. *Revista Diagnóstico*, Volumen 40, No.3, Mayo-Junio 2001.
33. Palavecino, E. Métodos recomendados para el estudio de susceptibilidad en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus saprophyticus*: Nuevos puntos de corte e interpretación de resultados. *Rev Chil Infect* (2002); 19 (Supl.2): S 119-124.
34. NCCLS. Normativa para la puesta en Práctica del Estudio de Susceptibilidad Antimicrobiana; Octavo Suplemento Informativo. Documento del NCCLS. Enero, 1998. P. 17-21.
35. von Eiff, C. et.al. Nasal Carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *New England Journal of Medicine*, vol. 344, No. 1. January 4, 2001.
36. Miller, L, M.D. et.al. Necrotizing Fasciitis caused by Community-Associated Methicillin Resistant, *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *The New England Journal of Medicine*; 352: 1445-53. April 7, 2005.
37. Salmenlinna, S. Community acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Finland. *National Public Health Institute, Helsinki, Finland*. Vol. 8, No. 6, June 2002.
38. Chambers HF. Community Associated MRSA- Resistance and Virulence Converge. *New England Journal of Medicine*. 352;14, April 7, 2005.
39. Okuma K, Iwakawa K, Tumidge JD, et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiology* 2002; 40: 4289-94
40. Merino, L., Ronconi MC. Perfiles de susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina. *Boletín de Medicina Regional* 1999; 52-53. Madrid, España.
41. Eady EA, Cove JH. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*- an emerging problem for the management of the skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Disease* 2003; 16: 103-24.
42. Sieradzki K, Roberts R, Haber S, Tomasz A. The Development of Vancomycin Resistance in a Patient with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *New England Journal of Medicine*, Volume 340:517-523, February 18, 1999, No. 7.

43. Robinson D, Enright MC. Evolutionary Models of the Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Dec. 2003, p. 3926-3934.
44. Dra. Palacio, R. Relevancia de *Staphylococcus aureus* en la Infección Intrahospitalaria. Lab. Clín. Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay Depto. de Laboratorios de Salud Pública, 2003.
45. Ryan, K.J., Ray, C.G. Microbiología Médica: Una introducción a las enfermedades infecciosas. 4ta. ed. México, D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2004. Pg. 156-159.
46. Novedades 2005, CLSI/NCCLS. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. INEI-ANLIS. "Dr. Carlos G. Malbrán". Argentina.
47. Domínguez L, M.A., Pujol R., M. Cambios en la Epidemiología de *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina. Recomendaciones para el control de su diseminación. Servicios de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital de Liobregat, J Clin Microbiol 1999; 32: 281287.
48. Camarena, J. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Depto. de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia. 2000.
49. Chambers HF. Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. *Clinical Microbiology Reviews*, American Society for Microbiology, Oct. 1997, p. 781-791.
50. Dr. Urrutia, O. Dr. Fernández, F., et al. Comportamiento de la Resistencia Antibiótica en una Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, Vol. 2, Enero 2003.
51. Corbella X, Domínguez MA, Pujol M, Ayats J. *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage as a Marker for Subsequent Staphylococcal Infections in Intensive Care Unit Patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 351-357.
52. Álvarez de Luna, F, et.al. *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticlina procedentes de muestras clínicas en la provincia de Córdoba. *Revista Española, Quimioterapia*, sep 2003, vol 16, No. 3, 304-307.
53. Sanabria R., Laspina F., et al. Portación Nasal de *Staphylococcus aureus* en Personal Hospitalario, Frecuencia y Patrón de Sensibilidad Antimicrobiana. Depto. de Microbiología del Instituto del Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS), UNA. 1998.

54. Peacock SJ, Justice A, Crook D, *et al.* Determinants of Acquisition and Carriage of *Staphylococcus aureus* in Infancy. *Journal of Clinical Microbiology*, December 2003, p. 5718-5725, Vol. 41, No. 12.
55. Hamdan, G. Impacto del *S. aureus* metilino resistente sobre la evolución de la neumonía asociada al ventilador. Venezuela. *Am J Res Crit Care Med*, Octubre, 2004.
56. Casewell MW. Elimination of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* with mupirocin (pseudomonic acid) a controlled trial. *J Antimicrob Chemother* 1995; 17: 365-372.
57. Jacoby, G. Mechanisms of Disease: The New  $\beta$ -Lactamases. *The New England Journal of Medicine*, 2005; 352: 380-91.

## XIII. ANEXOS:

## LOS ESTAFILOCOCOS

TABLA 1.

Características fenotípicas importantes de *Staphylococcus aureus* (1)

Cocos gram-positivo, agrupados en forma de racimos

No-móviles, no esporoformadores, anaerobios facultativos

La fermentación de la glucosa produce principalmente ácido láctico

Catalasa positivo

Coagulasa positivo

Colonias amarillo sobre agar manitol sal

Se encuentra como microbiota normal en los humanos en fosas nasales, piel y membranas mucosas

Puede ser un patógeno humano, causando una amplia variedad de infecciones supurativas, o bien envenenamiento alimentario y el síndrome del choque tóxico

TABLA 2.

Principales pruebas para la diferenciación de tres especies del Género *Staphylococcus* de origen humano (1,9)

Prueba	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulasa	+	-	-
Fermentación del manitol sal (producción de ácido)	+	-	+/-
DNAsa	+	-	-
Resistencia a Novobiocina	-	-	-
Crecimiento en anaerobiosis	+	+	-
Hemólisis	+	-	-

TABLA 3.

Clasificación del *Staphylococcus aureus* según resistencia hacia los agentes antimicrobianos (13)

TIPOS DE S. AUREUS	CARACTERÍSTICAS
MRSS	Sensible a la meticilina
MRSA	Resistente a meticilina, cefalosporinas, carbapenem, monobactam
SCV's	Pequeñas colonias variables
GISA	Resistencia intermedia a los glicopéptidos
VISA	Resistencia intermedio a la vancomicina

TABLA 4.

Flora predominante y con potencial patógeno en diversos sitios del cuerpo (45)

SITIO CORPORAL	FLORA	
	PATÓGENOS POTENCIALES (PORTADOR)	BAJA VIRULENCIA (RESIDENTES)
Nasofaringe	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> . Estreptococos del grupo A <i>Staphylococcus aureus</i> (narinas)	<i>Neisseria</i> sp., estreptococos viridans, <i>Moraxella</i> , <i>Peptostreptococcus</i>



Maria Gabriela Abdalla Mansilla  
Autora

Lic. Jorge Matheu  
Asesor

Dr. Carlos Grazioso  
Asesor

Dr. Carlos Grazioso  
Pediatria  
Col. 5851

  
~~Licda. Alba Marina Valdés de Garcia~~  
Revisora

Lic. Osberth Morales  
Revisor

M.Sc. Vivian Lucrecia Matta de Garcia  
Directora

Ph.D. Oscar Manuel Cobar Pinto  
Decano