

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

**Determinación de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus*
coagulasa negativo en el Hospital General San Juan de Dios**

Celeste Betzabé García Contreras

Química Bióloga

Guatemala, noviembre del 2005

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	3
III.	ANTECEDENTES	5
	A. Generalidades de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	5
	B. Estructura de los <i>Staphylococcus</i>	5
	C. Factores de virulencia	5
	D. Identificación de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	6
	E. Patogénesis	9
	F. Epidemiología	10
	G. Tratamiento	11
	H. Resistencia antimicrobiana	12
IV.	JUSTIFICACIÓN	20
V.	OBJETIVOS	22
VI.	HIPÓTESIS	23
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	24
VIII.	RESULTADOS	29
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
X.	CONCLUSIONES	40
XI.	RECOMENDACIONES	41
XII.	REFERENCIAS	42

I. RESUMEN

En el presente estudio se determinó la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo provenientes de muestras clínicas recuperadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios durante el periodo del 1 de febrero al 30 de abril de 2005.

Se realizó un muestreo por conveniencia, colectándose un total de 235 cepas. A cada una de ellas, se le identificó los patrones de resistencia antimicrobianos mediante el método de Bauer Kirby (difusión en disco). Los resultados obtenidos fueron tabulados y analizados en el programa WHONET e interpretados según el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI).

De las muestras recolectadas, se obtuvo 109 aislamientos en sangre, 69 aislamientos en catéter y 57 aislamientos de otras muestras, sin embargo, se observó la mayor resistencia antimicrobiana en los aislamientos procedentes de muestras de catéter. Las cepas provenientes de catéter son más agresivas debido a la selección bacteriana que provocan los antibióticos administrados al paciente a través de esta vía. Los *Staphylococcus* aislados de sangre representaron el mayor número de aislamientos y los perfiles de resistencia más bajos debido a que generalmente provienen de la microbiota de los implicados en la toma de muestras o de la misma microbiota del paciente, y no son la causa de la infección.

En los servicios de la Unidad de cuidados intensivos se presenta la mayor resistencia antimicrobiana por *Staphylococcus* coagulasa negativo. Los servicios de Consulta externa de pediatría y adultos presentaron las menores resistencias antimicrobianas. La especie más aislada y la que presentó mayor resistencia antimicrobiana en todos los servicios fue *Staphylococcus epidermidis*.

Se observó el siguiente patrón de resistencia para todos los aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo: oxacilina (88%), eritromicina (78.3%), trimetoprima/sulfametoxazole (72.42%), clindamicina (64%), gentamicina (62%), ciprofloxacina (46.75%), cloranfenicol (37.6%) y vancomicina (0%). De manera que las opciones para los *Staphylococcus* oxacilina resistente son ciprofloxacina (46.75%) y cloranfenicol (37.6%) los cuales son los antibióticos con mejores resultados pero los más tóxicos. No se encontró resistencia a la vancomicina, por lo que puede considerarse el antibiótico de elección para aquellos aislamientos oxacilina resistente, en los que no puede utilizarse ciprofloxacina ni cloranfenicol.

En el Hospital General San Juan de Dios se encontró alto grado de multiresistencia por *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente. Se determinó que el 72 por ciento de resistencia a la oxacilina es dada por la presencia del gen mec-A, asociándose a este mecanismo la multiresistencia encontrada, reduciéndose las opciones terapéuticas y dificultándose el tratamiento de ciertas infecciones.

De los 235 aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo, el 3.4 por ciento presentaron el mecanismo de resistencia Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas inducible (MLS_i), el servicio más afectado fue la Unidad de cuidados intensivos. La resistencia observada se presentó en pacientes internos y ambulatorios. El mecanismo de resistencia MLS_i no está asociado al gen mec-A.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana es un importante problema de salud pública que afecta a la mayoría de los países del mundo. En Latinoamérica el incremento y mal uso de antibióticos en las cuatro últimas décadas ha dado lugar a la resistencia antimicrobiana entre diversos microorganismos (1).

Hasta el momento no se conocen todos los mecanismos de resistencia que existen y sirvan de base para recomendar la mejor alternativa de entre las múltiples opciones de antibióticos con que se cuentan actualmente. Además, en la mayoría de laboratorios no existe vigilancia de los perfiles de susceptibilidad que pueden presentar los microorganismos.

Estudios epidemiológicos indican que los *Staphylococcus* coagulasa negativo están tornándose multiresistentes frente a diferentes antibióticos, asociado al alto grado de resistencia a oxacilina tanto en cepas de origen intrahospitalario como comunitario. En la actualidad se han reportado cepas de *S. haemolyticus* y *S. epidermidis* que presentan resistencia hacia la vancomicina. La vancomicina es un antibiótico de espectro restringido fundamentalmente a bacterias Gram positivo; es uno de los últimos antibióticos de elección para los *Staphylococcus* oxacilina resistente; por tanto es urgente tomar medidas necesarias para la prevención y control de la resistencia (2, 3).

La determinación de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo en el Hospital General San Juan de Dios permitió establecer los perfiles de resistencia antimicrobiana de éstos en los diferentes servicios del hospital. Esta información será útil para controlar y prevenir el desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos.

En la presente investigación se realizó un muestreo de todas las cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo que llegaron al laboratorio de microbiología del Hospital General San Juan de Dios en un periodo de tres meses a partir de febrero del 2005,

donde se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de las mismas a través del método de dilución y difusión en disco. La confirmación de la resistencia se realizó utilizando el método de difusión en disco. Los resultados obtenidos fueron procesados en el programa WHONET (Red de la Organización Mundial de la Salud).

Para la detección de mecanismos de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo se consultaron las tablas del Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI). Los aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente se identificaron utilizando el disco de oxacilina de 1 µg, para la identificación de aislamientos portadores del gen mec-A se utilizaron los discos de cefoxitín 30 µg y oxacilina 1 µg y para la detección de mecanismos de resistencia a antibióticos macrólidos, lincosamidas y estreptograminas se utilizaron los discos de clindamicina 2 µg y eritromicina 15 µg.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades de *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN)

El género *Staphylococcus* pertenece a la familia Micrococcaceae. El *Staphylococcus coagulasa negativo* se ha clasificado en 19 especies, de las cuáles 11 se asocian con colonización o infección de hombres y animales. Se subdividen en cuatro grupos según el análisis de hibridación de ADN-ADN: grupo de *S. epidermidis*, grupo de *S. saprophyticus*, grupo de *S. simulans* y grupo de *S. sciuri*, *S. aureus* (4-6).

Los *Staphylococcus* son cocos Gram positivo que forman aglomeraciones cuando se desarrolla en un medio de agar, pero que se visualiza con frecuencia de forma aislada o en pequeños grupos cuando se trata de material clínico estudiado al microscopio; miden 0.5-1.5 μm de diámetro, son inmóviles, anaerobios facultativos; se dividen en dos planos para formar grupos irregulares de células, semejantes a racimos de uvas (5).

B. Estructura de los *Staphylococcus*

Los *Staphylococcus coagulasa negativo* constan de una cápsula que protege a la bacteria de la interacción con el complemento, anticuerpos y células fagocitarias. El peptidoglucano es el principal componente estructural de la pared celular del *Staphylococcus*. El ácido teicoico es uno de los polisacáridos que se utilizan para detectar enfermedad estafilocócica sistémica y es específico de especie. El ácido glicerolteicoico posee residuos glucosídicos que se utilizan para la detección de *S. epidermidis*. La membrana citoplasmática es una barrera osmótica que regula el transporte dentro y fuera de la célula y es el lugar donde se encuentran las enzimas biosintéticas y respiratorias (3, 7).

C. Factores de virulencia

Se ha detectado una enterotoxina asociada a *S. epidermidis* capaz de producir peristaltismo intestinal y efecto sobre el sistema nervioso central. Todos los

Staphylococcus producen catalasa durante el metabolismo, enzima que cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en agua producido por el sistema mieloperoxidasa dentro de las células fagocíticas después de la ingestión de estos microorganismos (5, 6, 8).

Más del 30 por ciento de los *Staphylococcus* coagulasa negativo producen lipasas, enzimas esenciales para la supervivencia de los estafilococos en las áreas sebáceas del organismo contribuyendo a la invasión cutánea y subcutánea (5).

La mayoría de *Staphylococcus* producen la enzima penicilinasas que es inducida cuando las bacterias están expuestas a un antibiótico betalactámico. La sustancia polisacárida limo es producida por algunas cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo y facilita la adherencia de éstos a los catéteres y el material sintético. La cápsula y pared celular interviene en la quimiotaxis, opsonización y en la fagocitosis (4, 5).

D. Identificación de *Staphylococcus* coagulasa negativo

1. Aislamiento primario y medios de cultivo

Para el aislamiento primario se obtiene la muestra con material estéril antes de tratamiento con antibiótico; se hace un frote Gram e inocular en agar MacConkey y agar sangre de carnero al 5 por ciento. El agar sangre es un medio enriquecido utilizado para diferenciar microorganismos α , β y γ -hemolíticos, en el se desarrolla con mucha rapidez los *Staphylococcus* después de 24 horas de incubación a 37 °C (9-11).

La mayoría de las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo forman colonias grandes de 2-3 mm, después de 24 horas de incubación a 35 °C, o hasta 7 mm después de 48 a 72 horas de incubación. La mayoría de las colonias estafilocócicas son opacas y convexas, blancas o amarillentas en agar sangre de carnero, consistencia cremosa. En el Gram se observa presencia de cocos agrupados en forma de racimo de uvas Gram positivo (4, 9).

Una vez que la colonia de un medio de aislamiento primario ha sido conocida como posible *Staphylococcus*, basándose en morfología, características de crecimiento y prueba de catalasa positiva, la segunda consideración es diferenciar un *Staphylococcus aureus* de los *Staphylococcus* coagulasa negativo (4, 12).

2. Pruebas de diferenciación entre especies

a. Coagulasa

La coagulasa es una enzima que transforma el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo visible. La prueba de coagulasa en tubo es la prueba de referencia para la identificación de *S. aureus*. El medio recomendado para realizar la prueba de la coagulasa, es el plasma de conejo con EDTA. La producción de coagulasa es una característica confiable de *S. aureus* (4, 13, 14).

b. Fermentación del manitol

La presencia de crecimiento y el cambio de color amarillo del medio indican la utilización del manitol. La capacidad de *S. aureus* y de *S saprophyticus*, pero no de *S. epidermidis*, de fermentar manitol es una característica taxonómica importante (4, 13).

c. Producción de limo

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo se adhieren a los dispositivos plásticos, produciendo una capa visible del polisacárido que une firmemente las colonias bacterianas al plástico. El microorganismo de prueba es incubado en un tubo de tripticasa soya, durante 24 horas a 35 °C en atmósfera de dióxido de carbono. Después de 18 a 24 horas de incubación, el caldo se vuelca con cuidado y se busca una capa delgada en la pared interior del tubo (14).

d. Prueba de susceptibilidad a la novobiocina

Si la coagulasa es negativa y la fermentación del manitol positiva, puede tratarse de *Staphylococcus saprophyticus*, se confirma haciendo susceptibilidad a un disco con novobiocina, que debe presentar inhibición. Un diámetro mayor o igual a 16 mm de inhibición será considerado como susceptible. Las cepas de *S. saprophyticus* tienen concentración inhibitoria mínima de 1.6 µg/ml o más (9, 13).

e. Otras pruebas de identificación de *Staphylococcus* coagulasa negativo

En los últimos años, la identificación de las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo se ha facilitado por la introducción de presentaciones comerciales. La identificación de los aislamientos puede efectuarse usando un cuadro de identificación o convirtiendo las reacciones en códigos numéricos y comparándolos con los listados en el índice de perfiles. La identificación de un aislamiento también puede realizarse comparando el código numérico en una base de datos computarizada. De las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo, solo *Staphylococcus epidermidis* y *S. saprophyticus* poseen significación clínica (4, 15).

Existen varios sistemas de identificación de *Staphylococcus* coagulasa negativo. El Staph-Ident es una tira de prueba asistida por computador que incluye 10 microcúpulas que contienen los reactivos impregnados, la tira introduce los nombres de diez especies nuevas de *Staphylococcus*. El Staph-Tract, es un sistema que identifica micrococos y *Staphylococcus* usando 19 pruebas en forma de tira.

El sistema Minitex Gram positivo usa discos de papel de filtro impregnados con varios sustratos de prueba. El sistema Microscan Gram positivo (American Microscan, West Sacramento, Ca) son bandejas de microtitulación que contienen sustratos congelados o secos, que se inoculan con una suspensión del microorganismo en caldo. Estos paneles se incuban durante toda la noche y se leen de forma manual o automática. En general, con

estos sistemas de identificación es posible obtener especies más comunes de *Staphylococcus* coagulasa negativo como *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* (4, 16).

E. Patogénesis

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo forman parte de la microbiota normal de la piel humana, producen enfermedades en casi todos los órganos y tejidos del cuerpo. La colonización implica una interacción específica entre adhesinas estafilocócicas y receptores celulares. Además de infecciones cutáneas los *Staphylococcus* pueden producir osteomielitis, pielonefritis, neumonía, meningitis, artritis purulenta, septicemia y endocarditis. Las infecciones graves son la mayoría de veces infecciones adquiridas en el hospital (17-19).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo se encuentran como microbiota normal del intestino grueso; el *S. epidermidis* se encuentra como microbiota normal de vagina adulta, piel, ojos, oídos, uretra en varones y boca de postneonatos (20, 21).

Staphylococcus lugdunensis es una especie que fue relacionada inicialmente con endocarditis, posteriormente se asocio a un amplio espectro de enfermedades leves. En los últimos años, *S. lugdunensis* ha pasado a tener un notable incremento y a ser cada vez más frecuente su aislamiento. Se encuentra habitualmente en la piel, sobre todo en la región perineal. En cuanto a otras localizaciones, se han aislado muestras del aparato respiratorio, orofaringe y endocardio después de extracciones dentales (22).

S. lugdunensis causa infección principalmente en el ámbito intrahospitalario; sin embargo la diabetes, inmunosupresión, neoplasias, insuficiencia renal crónica, traumatismos e intervenciones quirúrgicas son factores de riesgo más frecuentes. Su creciente papel como patógenos oportunistas está relacionado con procedimientos médicos invasivos de diagnóstico y terapéuticos, y la generalización del uso de catéteres y dispositivos endovenosos (2, 22, 23).

Las infecciones por *Staphylococcus* coagulasa negativo suelen asociarse a la presencia de un cuerpo extraño especialmente catéteres intravasculares, derivaciones de líquido cefalorraquídeo, material protésico y catéteres de diálisis peritoneal, infecciones urinarias en niños y adolescentes causada por *S. saprophyticus* lo que determina su patogenia (14, 24, 25).

F. Epidemiología

La prevalencia de la infección por *Staphylococcus* coagulasa negativo a fluctuado ampliamente. Un aspecto importante de cualquier programa epidemiológico de control es la capacidad de identificar las cepas de forma precisa, a fin de seguir el rastro de su diseminación. La biotipificación clásica, que implica la determinación del serotipo, del fagotipo y lisotipo y del antibiograma, es completada con métodos moleculares basados en sistemas genéticos variables (17).

En las infecciones bacterianas agudas se debe hacer una elección de drogas, los modelos de susceptibilidad varían mucho de un hospital a otro y aun de una sala a otra dentro del mismo hospital; uno de los gérmenes que se aíslan con mayor frecuencia es *Staphylococcus* coagulasa negativo. El 5 por ciento de resistencia es de origen extrahospitalario y el 9 por ciento de origen intrahospitalario (1, 26).

Al inicio la penicilina era el antibiótico de primera elección; en poco tiempo se fueron desarrollando cepas resistentes que hicieron ineficaces a las penicilinas naturales. La resistencia a la penicilina se debe a la enzima penicilinasa, una β -lactamasa que inactiva el antibiótico, actividad que también le ha conferido resistencia ante un sin número de penicilinas sintéticas. Según estudios realizados se observa resistencia notable a la oxacilina con cepas de origen tanto intrahospitalario como comunitario; altísima frente a la penicilina e incipiente a la vancomicina por parte de las cepas (27).

En 1987 se empezaron a publicar en la literatura médica mundial datos de resistencia a vancomicina en *S. haemolyticus*, que es la segunda especie de *Staphylococcus* coagulasa

negativo más aislada; algunos reportes indican que esta resistencia es adquirida por terapia prolongada a vancomicina (27).

G. Tratamiento

Para la mayoría de las infecciones cutáneas, los antibióticos orales como la cloxacilina y eritromicina resultan adecuados. Las infecciones más graves, en especial las bacteremias, requieren terapia intravenosa, en general durante seis semanas. La elección de antibióticos depende del lugar de la infección, la gravedad de la enfermedad y de los antibióticos que eliminan las bacterias con mayor eficacia (24).

Entre los pocos antibióticos que suelen ser eficaces contra *Staphylococcus* meticilina resistentes se encuentran la vancomicina y el trimetoprima/sulfametoxazol. La vancomicina mata las bacterias, el trimetoprima-sulfametoxazol actúa inhibiendo su capacidad para multiplicarse (24).

En las infecciones de *Staphylococcus* sp causada por el uso de catéter, el tratamiento obliga generalmente a la retirada del cuerpo extraño como catéter o prótesis y a una terapia antibiótica coadyuvante. La selección del antibiótico se ve dificultada por la multiresistencia que presentan estos microorganismos (24).

Debido al problema de la resistencia de los *Staphylococcus* a la penicilina, se desarrollaron penicilinas semisintéticas resistentes a la hidrólisis por β -lactamasas. La resistencia a las penicilinas semisintéticas también se asocia a resistencia a otras clases de antibióticos, como clindamicina, eritromicina y aminoglucósidos (5, 28).

Entre las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo la resistencia a meticilina es frecuente en *S. epidermidis* pese a la tendencia de los *Staphylococcus* a desarrollar resistencia a los antibióticos, casi todas las cepas son uniformemente sensibles a la vancomicina, que constituye el antibiótico de elección en el tratamiento de la enfermedad provocada por los *Staphylococcus* resistentes a los antibióticos β -lactámicos (5, 29, 30).

En las endocarditis causadas por *Staphylococcus* oxacilina resistente se recomienda trovafloxacin y ampicilina sulbactam (31-33).

H. Resistencia antimicrobiana

La resistencia bacteriana es un tema muy importante en el estudio de los antibióticos, porque su comprobación implica el fracaso de la terapéutica. Es importante separar la resistencia natural de la resistencia adquirida y de ésta los distintos modos de obtenerla. Cada uno de los procedimientos logrados por las distintas bacterias para resistir a los antibióticos tiene bases genéticas y bioquímicas cuyo conocimiento se amplía cada año (34).

La resistencia natural es la obtenida por las bacterias de una misma especie o cepa frente a determinado antibiótico. Esta capacidad de resistencia al fármaco es común a todos los integrantes de la especie. *Staphylococcus* coagulasa negativo no presenta resistencia natural, esta es de tipo adquirida (34).

La resistencia adquirida es la resistencia a uno o varios antibióticos, puede lograrse en el transcurso del tiempo por dos mecanismos básicos: por mutación de las características de su cromosoma o por la adquisición de material genético con ubicación extracromosómica (34).

La resistencia adquirida se diferencia de la resistencia natural porque se alcanza de un modo parcial por pocos o muchos integrantes de una misma especie o cepa pero no por la totalidad (34).

1. Bases bioquímicas de la resistencia

El conocimiento de las bases bioquímicas de la resistencia es de gran valor ya que permite la síntesis de nuevos fármacos con mayor capacidad antibacteriana. Las bacterias

disponen, crean o logran la resistencia mediante diversos recursos biológicos que explican la rapidez de su adaptación a un ambiente desfavorable. Los mecanismos de resistencia incluyen: prevención del acceso al sitio blanco por inhibición de la captación o aumento de la excreción del fármaco, modificación del sitio blanco, reducción de la importancia fisiológica del sitio blanco, unión competitiva del fármaco y síntesis de una enzima que inactiva el fármaco (34, 35).

Cada uno de los principales grupos de antibióticos puede ser afectado por uno o varios de los mecanismos anteriores.

Básicamente, los antimicrobianos actúan en alguno de los siguientes niveles fundamentales para la supervivencia de la bacteria: inhibición de la síntesis de pared celular (penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos β -lactámicos, fosfomicina y glucopéptidos que incluye la vancomicina); inhibidores de la síntesis proteica (macrólidos, lincosaminas, estreptograminas, cloranfenicol, tetraciclinas y aminoglucósidos como estreptomina, neomicina, kanamicina, gentamicina, trobamicina y amikacina); inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos (quinolonas, sulfonamidas, trimetoprima y nitrofuranos) (4).

2. Mecanismos de acción y resistencia de antibióticos utilizados contra bacterias Gram positivo

a. Penicilinas y cefalosporinas

El principal mecanismo de resistencia a los β -lactámicos es la elaboración de enzimas inactivadoras, las β -lactamasas. Estas enzimas hidrolizan el anillo β -lactámico liberando ácido peniciloico o cefalospoico, que son biológicamente inactivos. Hasta el momento se han identificado más de 100 β -lactamasas, de las cuales una pequeña cantidad es responsable de la mayor parte de la resistencia observada. Las bacterias Gram positivo como los *Staphylococcus* producen β -lactamasas extracelulares, destruyen el antibiótico antes de entrar en la célula. Las β -lactamasas son inducidas por el antibiótico. El agregado de más cantidad de fármaco sólo induce la formación de mayor cantidad de enzimas que

aumenta la resistencia. La resistencia a las β -lactamasas se ha vuelto común en los *Staphylococcus*, tanto en aquellos adquiridos en el hospital como en la comunidad. El *S. epidermidis* es resistente con frecuencia a las penicilinas semisintéticas como meticilina, nafticilina y oxacilina (34, 36, 37).

b. Macrólidos

El blanco de estos fármacos puede ser modificado por metilación del ARN ribosómico 23 S de las bacterias Gram positivo susceptibles. Esta modificación hace que las subunidades 50 S sean resistentes a los fármacos (34).

c. Lincosamida

Es un inhibidor de la síntesis proteica, activos frente a microorganismos Gram positivo (34).

d. Glucopéptidos

Actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular en un sitio diferente al de los β -lactámicos. La actividad de este grupo está dirigida a las bacterias Gram positivo. La vancomicina es aceptada para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram positivo en pacientes alérgicos a la penicilina y también es útil para la terapia de infecciones debidas a especies bacterianas resistentes a β -lactámicos, como *S. aureus* meticilina y *Staphylococcus coagulasa negativo* meticilina resistente (36).

e. Quinolonas

Este grupo de compuestos inhiben la actividad de la ADN-girasa responsable de que se enrolle el ADN, el complejo quinolona ADN genera un corte del ADN que no se puede reparar y así se impide la división del ADN. La resistencia se debe a mutaciones

cromosómicas de la ADN-girasa e incremento del eflujo debido a la acción de una proteína transportadora que expulsa el medicamento de la bacteria (36).

f. Aminoglucósidos

La resistencia a los aminoglucósidos puede ser de tipo cromosómico o plasmídico. Son un grupo de antibióticos de estructura similar que inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal. Puede utilizarse para el tratamiento de infecciones contra algunas bacterias Gram positivo resistentes (34, 36).

g. Sulfonamidas y Trimetoprima

Las bacterias con resistencia, cifradas por plásmidos, elaboran enzimas evasivas que eluden el bloqueo metabólico efectuado por sulfamidas o trimetoprima. El sulfametoxazol es usualmente ensayado en combinación con trimetoprima, estos producen una inhibición secuencial en dos pasos del metabolismo del folato de algunas bacterias Gram positivo. (34, 36).

h. Tetraciclinas

Son bacteriostáticos de amplio espectro. Se unen a una subunidad de los ribosomas impidiendo que se agreguen nuevos aminoácidos a la cadena de péptidos. La resistencia se produce debido a una disminución en la capacidad de penetrar al interior de la bacteria o a que la bacteria logra exportar el antibiótico (35).

3. Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa negativo*

Uno de los principales triunfos de la ciencia médica en el siglo XX ha sido de disponer de un arsenal terapéutico para enfrentar las enfermedades infecciosas. La terapia antimicrobiana ha jugado un papel vital en el tratamiento de las enfermedades infecciosas a través de los siglos (38).

La penicilina fue descubierta por Fleming en 1929. Florey, Chain y sus colaboradores en 1940 demostraron su enorme potencia y posibilidades de su extracción a partir de filtrados de cultivo de hongos *Penicillium notatum* introduciéndola en el mismo año en la llamada Era de los Antibióticos, jugando un papel importante las bacterias, estas desarrollaron rápidamente mecanismos de resistencia frente a este grupo de antibióticos (38).

Desde el descubrimiento de las penicilinas se ha desarrollado cientos de agentes antimicrobianos y docenas de ellos se encuentran disponibles para su uso en la clínica. Las familias de los antibióticos β -lactámicos y los macrólidos son de los más usados, teniendo en cuenta su carácter relativamente inocuo, espectro de actividad y pocos efectos secundarios. No obstante, el surgimiento de mecanismos de resistencia a los agentes químico terapéuticos y su diseminación ha sido inevitable respuesta de las bacterias patógenas (38).

Los mecanismos de resistencia incluyen hiperproducción de β -lactamasas, producción de meticilinasas, aparición de colonias independientes del gen *mecA*. Antiguamente el antibiótico de elección para las infecciones provocadas por *Staphylococcus* sp. era la penicilina natural, con el tiempo se hicieron resistentes por la producción de la enzima β -lactamasa de estas bacterias al ser expuestas al antibiótico (39).

La meticilina fue inducida en 1959 como la primera generación de penicilinas semisintéticas para el tratamiento de infecciones causadas por *S. aureus* resistentes a penicilinas. A sólo dos años de su introducción fue descrito el primer *S. aureus* meticilina resistente (MRSA) y en 1963 el primer MRSA nosocomial epidémico (39).

Los *Staphylococcus* meticilina resistentes (MRS) presentan el fenómeno de multiresistencia donde la región *mec* se comporta como un reservorio para diferentes determinantes. Se desconoce el exacto mecanismo del desarrollo de *Staphylococcus* meticilino resistente, aunque es probable que involucre alteraciones en la pared celular y en la hiperexpresión de proteínas ligadoras de penicilinas (4).

La frecuencia de resistencia a las penicilinas resistentes a β -lactamasas se ha incrementado significativamente en los Estados Unidos, Japón, España, Bélgica. Sólo unos pocos agentes antimicrobianos están disponibles para el tratamiento de estas infecciones provocadas por *Staphylococcus* coagulasa negativo, por ser microorganismos de resistencia a antibióticos de otras familias como los aminoglucósidos, los macrólidos y las quinolonas (26).

Con el descubrimiento de la vancomicina se aumentó la eficacia en el tratamiento de *Staphylococcus* meticilino resistentes. La vancomicina es un antibiótico producido por *Streptomyces orientalis*, un actinomiceto aislado de muestras de suelo obtenidos en Indonesia y la India (28, 39).

Existen reportes recientes donde describen el fallo de la droga. El uso indiscriminado y prolongado de la vancomicina puede causar, a corto plazo, una epidemia de cepas multiresistentes (39).

Las cepas de *S. haemolyticus* y *S. epidermidis* son las que presentan mayor resistencia hacia la vancomicina, encontrándose en muestras de pacientes que han recibido una terapia prolongada con vancomicina, particularmente en las salas de tratamientos renales (40).

La resistencia hacia los glicopéptidos es más común en *Staphylococcus* coagulasa negativo. Este grupo de antibióticos interfiere en forma activa con la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose de manera covalente al peptidoglicano. La unión del antibiótico con la proteína precursora puede bloquear el acceso de la peptidasa a los componentes esenciales por interferencia estérica (4, 40).

Según la información generada de investigaciones sobre resistencia antimicrobiana en varios países de Latinoamérica; el estado actual de resistencia indica que penicilina es la más resistente seguido de oxacilina. Para el resto de antibióticos evaluados, *Staphylococcus* coagulasa negativo presenta mayor resistencia a trimetoprima/

sulfametoxazole, seguido de eritromicina, gentamicina, cloranfenicol, tetraciclina, ciprofloxacina y vancomicina (41-44).

La resistencia a los antimicrobianos plantea una amenaza grave y cada vez mayor para la salud pública, generando un problema creciente en el mundo, que involucra cada día nuevas especies bacterianas (45).

La Asamblea Mundial de la Salud hizo hincapié en la necesidad de acción urgente al aprobar una resolución que pide la colaboración internacional para vigilar la resistencia antimicrobiana. Estudios de prevalencia de la infección nosocomial en España, confirman que las Unidades de cuidados intensivos representan aproximadamente un cuarto de las infecciones nosocomiales dentro de los hospitales, así como su evolución a lo largo de los años (45, 46).

Por otra parte, un estudio europeo de prevalencia de infecciones en las Unidades de cuidados intensivos de 17 países europeos, presentó que el 21 por ciento de los individuos desarrollaron infección nosocomial, para un total de 10,038 enfermos, al mismo tiempo, aportó información sobre los patrones de resistencia antimicrobiana de los microorganismos más frecuentes, destacando el alto nivel de resistencia a oxacilina de *Staphylococcus* coagulasa negativo con marcadas diferencias en los distintos países (46).

La vigilancia de la resistencia antimicrobiana en cinco hospitales de Lima en el segundo semestre del 2002 reportó *Staphylococcus* coagulasa negativo en 80 aislamientos, un 6.5 por ciento de resistencia antimicrobiana (47).

En el hospital de Caldas, Colombia se describió y analizó el comportamiento de los microorganismos más frecuentes en la unidad de cuidados intensivos y su susceptibilidad/resistencia a los antibióticos según los antibiogramas hechos por el laboratorio clínico entre 1992-1994. El *Staphylococcus* coagulasa negativo presentó frecuencia creciente, a través de los años de estudio (41).

En Chile, en noviembre de 1997 se inició una red de vigilancia de resistencia antimicrobiana en diferentes hospitales del país; que trabajando un protocolo común y utilizando un programa de computadora WHONET permitió detectar y monitorear el problema de resistencia bacteriana en Chile. Los resultados del primer semestre del año 2002 demostraron un perfil de resistencia a oxacilina por parte de *Staphylococcus*. Al comparar cepas nosocomiales y de la comunidad, las primeras presentaron un perfil de mayor resistencia (23).

En Corea se estudió el predominio de resistencia a Macrólidos, Lincosamida y Streptogramina para cocos Gram positivo aislados en un hospital coreano. De un total de 1097 muestras se aislaron 100 *Staphylococcus* MLSi. En 1990 en un periodo de seis meses se observó una incidencia que varió de 1 al 10 por ciento de resistencia de pristinamicina de *Staphylococcus* coagulasa negativo en cuatro Unidades de cuidados intensivos del Hospital de Parisiense, Francia (48, 49).

En el Hospital de Bellvitge Barcelona, los *Staphylococcus* coagulasa negativo fueron responsables del 24 por ciento de las bacteremias nosocomiales entre 1994 a 1996 (38).

IV. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas, se ha implicado como uno de los principales microorganismos causantes de infección al *Staphylococcus* coagulasa negativo. El número de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo resistentes a penicilina y oxacilina va en aumento tanto en Latinoamérica como en Norteamérica y Europa (33).

La importancia de la alta prevalencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo, se pone de relieve por el hallazgo de una elevada resistencia a oxacilina. Estos microorganismos son de resistencia a todos los demás antibióticos β -lactámicos y afecta a otros grupos de antibióticos no β -lactámicos, la droga de elección contra ellos es la vancomicina; que es la última droga de elección para los *Staphylococcus* meticilina resistente (3).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo son de los principales agentes etiológicos de infección en nuestro medio. Los problemas de resistencia antimicrobiana ocurren en el ambiente hospitalario y en la comunidad. En el ámbito hospitalario la evolución de la resistencia a oxacilina por *Staphylococcus* coagulasa negativo y en la comunidad el explosivo aumento de resistencia a β -lactámicos complican el panorama de susceptibilidad antimicrobiana y el manejo de los pacientes (50).

Se debe establecer el perfil de resistencia antimicrobiana actual en las distintas unidades del Hospital General San Juan de Dios y en base a estos actualizar el comportamiento bacteriano, para lograr la selección adecuada de antibióticos profilácticos o terapéuticos en este; debido a que la sensibilidad de los *Staphylococcus* coagulasa negativo a los antibióticos es impredecible y depende, principalmente de la especie y su procedencia (45).

El efecto de la resistencia representa un aumento en el tiempo y costo de hospitalización por el uso de antimicrobianos más caros, el perfil de los microorganismos que colonizan al enfermo se modifica a medida que aumenta la estancia en el hospital;

además aumenta la tasa de mortalidad, lo que implica un impacto social y económico tanto para el paciente como para el hospital que lo atiende (47, 51).

Esta investigación fortalecerá la vigilancia epidemiológica y dará a conocer la susceptibilidad de antibióticos de uso actual. Esta información permitirá tomar decisiones en cuanto a política de medicamentos de manera oportuna, promoviendo el uso racional de medicamentos en el Hospital General San Juan de Dios.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

Determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo en el Hospital General San Juan de Dios.

B. ESPECIFICOS

1. Establecer los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo en el Hospital General San Juan de Dios.
2. Relacionar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo con servicio de hospitalización del paciente, microorganismo aislado y tipo de muestra analizada.

VI. HIPÓTESIS

La investigación realizada no requiere de hipótesis porque se trata de un estudio descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

El universo del estudio comprendió a todos los pacientes que presentaban una infección por *Staphylococcus* coagulasa negativo y que fueron atendidos en el Hospital General San Juan de Dios, tanto pacientes de origen intrahospitalario como extrahospitalario.

B. Muestra

Se tomaron todos los cultivos positivos de *Staphylococcus* coagulasa negativo que fueron enviados al laboratorio microbiológico del Hospital General San Juan de Dios. Recolectándose 235 aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo de diversas muestras clínicas.

C. Recursos

a. Humanos

Br. Celeste Betzabé García Contreras (Tesisista)

Lic. Jorge Matheu (Asesor)

Licda. Támara Velásquez (Asesora)

b. Físicos

i. Materiales

- Tubos de ensayo de 13 x 10 mm con rosca
- Hisopos estériles
- Asa bacteriológica
- Pinzas de laboratorio
- Guantes de hule estériles
- Papel mayordomo
- Bata blanca

ii. Reactivos

- Cepas control
- Placas de agar Mueller-Hinton (4mm de espesor).
- Tubos con caldo Trypticase Soya.
- Estándar 0.5 de McFarland
- Discos comerciales de antibióticos (penicilina 10U, oxacilina 1µg, cefoxitin 30µg, eritromicina 15µg, clindamicina 2µg, trimethoprim-sulfamethoxazole 1.25/23.75µg, cloranfenicol 30µg, ciprofloxacina 5µg, gentamicina 10µg y vancomicina 30µg).
- Solución salina estéril al 0.85 por ciento.

iii. Equipo

- Incubadora a 35 °C ± 1°C.
- Refrigeradora
- Mechero Bunsen
- Sistema automatizado MicroScan® (Dade, Ca)
- Programa WHONET

D. Metodología

Las muestras que se analizaron fueron todas aquellas enviadas para cultivo microbiológico al Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios y que fueron positivas para *Staphylococcus coagulasa* negativo por medio del aislamiento, identificación y determinación de resistencia antimicrobiana por el sistema automatizado Microscan. Para el manejo de la información se realizó una ficha de datos que contenía fecha de recolección de la muestra, tipo de muestra analizada, servicio de hospitalización del paciente, microorganismo aislado, los antibióticos del panel que presenta el MicroScan ®; (se anotó si era susceptible, intermedio o resistente y a la combinación de antibiótico a la que era resistente). Posteriormente las cepas fueron trasladadas al Laboratorio Nacional de Salud a

temperatura de refrigeración entre 4 y 8 °C en hielera con blue-ice donde se les realizó el análisis y confirmación por el método de difusión con disco.

E. Procedimiento

a. Aislamiento, identificación y determinación de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa negativo*.

En el Hospital General San Juan de Dios para el aislamiento de bacterias, la muestra se inoculó en agar sangre de carnero, MacConkey y agar chocolate a 35 °C por 24 horas. El crecimiento en agar sangre de carnero y agar chocolate con ausencia de crecimiento en MacConkey se considero sugestivo de un microorganismo Gram positivo. A estas colonias se les realizó un Gram (observándose cocos Gram positivo agrupados en racimos o aislados); se confirmó con la prueba de la catalasa (positiva). El *Staphylococcus aureus* y el *Staphylococcus coagulasa negativo* se diferenciaron por las pruebas coagulasa y manitol sal. Para elaborar el antibiograma en el laboratorio se utilizó el método de difusión en disco y el método de dilución por el sistema automatizado MicroScan® (concentración mínima inhibitoria), que identifica las especies y determina la resistencia antimicrobiana de las mismas (52).

b. Análisis y confirmación de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa negativo* por el método de difusión con disco.

i. Preparación del inóculo

- Se seleccionaron 4 ó 5 colonias bien aisladas de igual morfología de la placa de cultivo. Se preparó una suspensión en 4 ó 5 ml de caldo tripticasa soya tocando la parte superior de cada colonia.
- Se ajustó la turbidez del inóculo con solución salina con el tubo 0.5 de la escala de MacFarland, por comparación con el estándar con ayuda del nefelómetro (1.5×10^3 UFC/ml aproximadamente) (52).

ii. Inoculación de las placas

- Entre los 15 minutos después de ajustado el inoculo se sembraron las placas de Mueller Hinton con un hisopo estéril. Se presionó el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de inoculo.
- Se inoculo la superficie seca del Mueller Hinton por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inoculo. Las zonas de inhibición fueron uniformemente circulares y el desarrollo confluyente.
- Se esperó de 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos antes de aplicar los discos para que el exceso de humedad superficial se absorbiera (52).

iii. Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas

- Se colocaron los discos sobre la superficie del agar inoculado con pinza estéril aplicando una ligera presión a una distancia no menor a 24 mm desde un centro a otro.
- Se incubaron las placas invertidas a 35 °C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.
- Los discos aplicados en las placas inoculadas fueron: penicilina 10U, oxacilina 1µg, cefoxitin 30µg, eritromicina 15µg, clindamicina 2µg, trimethoprim/sulfamethoxazole 1.25/23.75µg, cloranfenicol 30µg, ciprofloxacina 5µg, gentamicina 10µg y vancomicina 30µg (52).

iv. Lectura de las placas e interpretación de resultados

- Después de 16 a 18 horas de incubación a 35 °C se examinó cada placa y se midieron los diámetros de las zonas de inhibición. Si las placas fueron satisfactoriamente hisopadas y el inoculo fue el correcto, las zonas de inhibición eran uniformemente circulares y había desarrollo confluyente. Se utilizó luz transmitida para examinar un ligero crecimiento de cepas oxacilina o vancomicina resistentes dentro de la zona de inhibición.

- Los tamaños de las zonas de inhibición fueron interpretados con tablas y los microorganismos se informaron sensibles, intermedios o resistentes frente al antimicrobiano ensayado.
- La lectura de las placas e interpretación de resultados se hizo según el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI) (52-54).

c. Control de calidad

- i. Como control de calidad se utilizó la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- ii. El test de difusión se realizó para cada combinación de antibiótico versus microorganismo y se documentó el correcto comportamiento de los mismos.
- iii. Si se obtenía un resultado inconsistente o atípico con los aislamientos clínicos, las pruebas de sensibilidad o tipificación del microorganismo se repetía (52).

F. Diseño del estudio

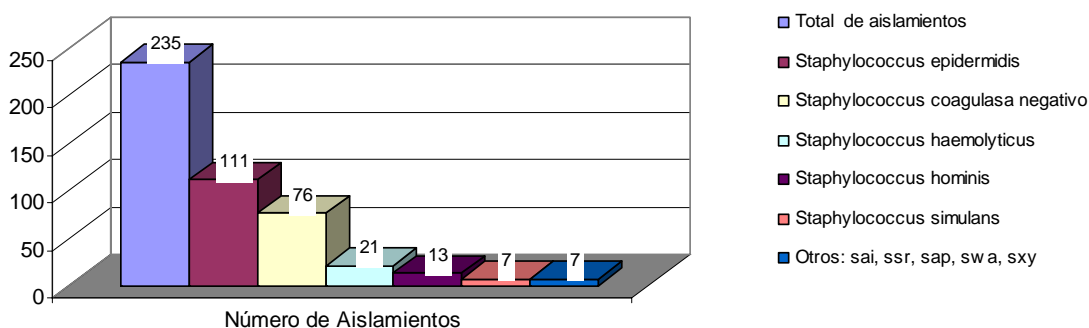
Fueron incluidas todas las cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo aisladas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios provenientes de muestras clínicas de los pacientes tanto de origen intrahospitalario como extrahospitalario, a partir de febrero de 2005 a abril de 2005. Las variables de interés fueron el aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativo e identificación de patrones de resistencia antimicrobiana.

Para la tabulación y análisis de resultados se utilizó la base de datos WHONET. La interpretación de resultados se hizo con la identificación de patrones de resistencia encontrados según el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI).

VIII. RESULTADOS

Se recolectaron 235 aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo en el laboratorio de microbiología del Hospital General San Juan de Dios en el periodo del 1 de febrero al 30 de abril del 2005. 119 aislamientos fueron identificados hasta especie mediante el equipo automatizado MicroScan® y el resto de forma manual. La distribución de las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo se observa en la Gráfica 1.

Gráfica 1. Distribución de especies de *Staphylococcus* coagulasa negativo aisladas en el Hospital General San Juan de Dios.



Fuente: datos experimentales

sai= *Staphylococcus auricularis*, ssi=*Staphylococcus sciuri*, sap= *Staphylococcus saprophyticus*, swa= *Staphylococcus warneri*, sxy=*Staphylococcus xilosus*.

En todas las especies aisladas de *Staphylococcus*, se observó resistencia antimicrobiana. De los antibióticos ensayados el que presenta mayor resistencia en todas las especies es la oxacilina (84%) y en los antibióticos no β -lactámicos los mayores porcentajes de resistencia se observaron en eritromicina (78.3%), trimetoprima/sulfametoxazol (72.42%), clindamicina (64.1%) y gentamicina (62.4%). La ciprofloxacina (46.75%), cloranfenicol (37.6%) y vancomicina (0%) son los antibióticos con la menor resistencia antimicrobiana (Tabla 1).

Tabla 1. Comportamiento de las principales especies aisladas de *Staphylococcus* coagulasa negativo a la resistencia antimicrobiana.

ANTIBIÓTICO	Microorganismo				
	% R scn n=90	% R sep n=111	% R sha n=21	% R sho n=13	% R Total n=235
Oxacilina	72	89	85	93	84
Eritromicina	64.4	73.8	90.5	84.6	78.3
Trimetoprima/Sulfametoxazol	69.9	52.2	47.6	69.2	72.42
Clindamicina	45.8	62.3	71.4	76.9	64.1
Gentamicina	41.2	62.3	76.2	69.2	62.4
Ciprofloxacina	26	52.2	85.7	23.1	46.75
Cloranfenicol	27.4	30.3	61.9	30.8	37.6
Vancomicina	0	0	0	0	0

Fuente: datos experimentales

%R = Porcentaje de resistencia

sen = *Staphylococcus coagulasa* negativo, sep= *Staphylococcus epidermidis*, sha= *Staphylococcus haemolyticus*, sho= *Staphylococcus hominis*

El comportamiento de la resistencia antimicrobiana en los servicios es variable. En la tabla 2 se observa que la resistencia es semejante en los Intensivos de pediatría, neonatología y adultos, sin embargo es preciso resaltar que la Unidad de cuidados intensivos de neonatología muestra los niveles más altos de aislamientos resistentes, seguido de Intensivo de pediatría y Emergencia de medicina de adultos.

En el servicio de neurocirugía de pediatría se obtuvo el 100 por ciento de resistencia a los antibióticos evaluados excluyendo la vancomicina, sin embargo este dato no es representativo de la resistencia antimicrobiana en el servicio de Neurocirugía de pediatría debido a que solamente se realizó un aislamiento.

Tabla 2. Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa* negativo en los diferentes servicios.

ANTIBIÓTICO	A n=22	B n=39	C n=18	D n=36	E n=19	F n=17	G n=1	H n=27	I n=56
Oxacilina	93	92	100	87	100	71	100	81	65
Eritromicina	80	92	86	74	85	71	100	64	52
Clindamicina	80	92	71	61	61	43	100	43	27
Gentamicina	87	79	70	61	61	57	100	27	62
Trimetoprima/Sulfametoxazol	80	58	75	39	46	80	100	45	75
Ciprofloxacina	40	58	57	74	54	28	100	18	22
Cloranfenicol	37	48	20	52	33	28	100	18	19
Vancomicina	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: datos experimentales

A = Intensivo pediátrico

B = Intensivo de neonatología

C = Intensivo de adultos, Cuidados coronarios, Cuidados intensivos, Unidad de cuidados intensivos de medicina.

D = Medicina de mujeres (XIII), Medicina de mujeres (XIV), Medicina de hombres (XV), Medicina hombres (XVI), Nefrología adultos, Oftalmología, Post parto patológico, Urología, Trauma hombres.

E = Cirugía hombre, Cirugía mujeres, Neurocirugía adultos.

F = Trauma de pediatría, Cuna2, Cunas, Medicina niños, Nefrología pediátrica

G = Neurocirugía de pediatría.

H = Consulta externa adultos, Emergencia cirugía, Emergencia medicina, Operados de emergencia.

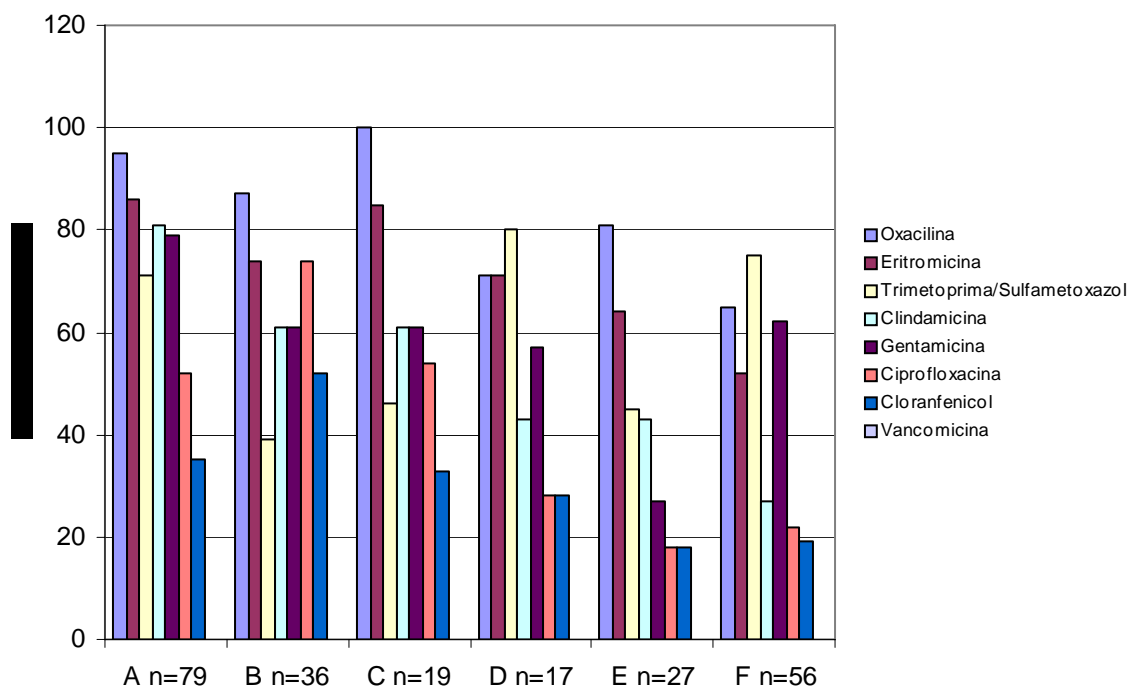
I = Consulta externa pediatría, Emergencia cirugía pediatría, Emergencia medicina pediatría.

n= Número de muestras.

En la Gráfica 2 se expone el perfil de resistencia antimicrobiana en los principales servicios donde se observó que el mayor número de aislamientos se encuentra en las Unidades de cuidado intensivo y en la Consulta externa de adultos.

En la Consulta externa de adultos y en la pediatría se muestra la menor resistencia a los antibióticos que en el resto de los servicios.

Gráfica 2. Distribución de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa* negativo en los servicios.



Fuente: datos experimentales

A = Intensivo pediátrico, Intensivo de neonatología, Intensivo de adultos, Cuidados coronarios, Cuidados intensivos, Unidad de cuidados intensivos de medicina.

B = Medicina de mujeres (XIII), Medicina de mujeres (XIV), Medicina de hombres (XV), Medicina hombres (XVI), Nefrología adultos, Oftalmología, Post parto patológico, Urología, Trauma hombres.

C = Cirugía hombre, Cirugía mujeres, Neurocirugía adultos.

D = Trauma de pediatría, Cuna2, Cunas, Medicina niños, Nefrología pediátrica

E = Consulta externa adultos, Emergencia cirugía, Emergencia medicina, Operados de emergencia.

F = Consulta externa pediatría, Emergencia cirugía pediatría, Emergencia medicina pediatría.

Se aisló *Staphylococcus coagulasa* negativo en las siguientes muestras clínicas: sangre, catéter, secreciones varias y otras (orina, líquido cefalorraquídeo, herida quirúrgica, úlcera, vejiga, ojo, úlcera externa, secreción traqueal, músculo, líquido abdominal, fistula, y cavidad bucal); procesadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios. En las muestras de catéter se detectaron los mayores porcentajes de cepas resistentes y en las muestras de sangre los menores porcentajes de resistencia, ver Tabla 3.

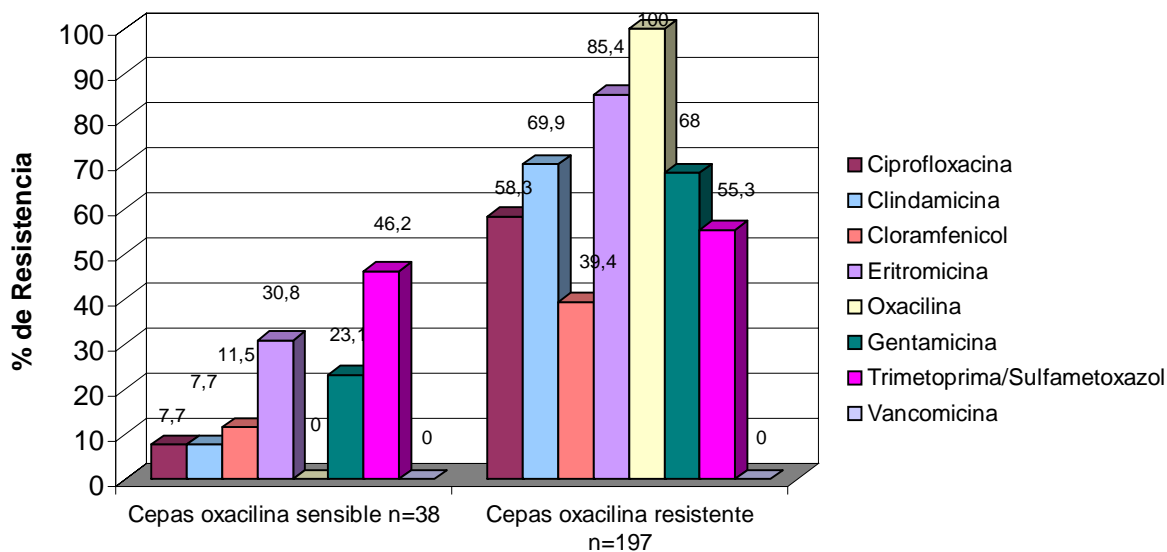
Tabla 3. Distribución de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulasa negativo en las muestras recolectadas

ANTIBIÓTICO	CATÉTER n=69	SECRECIONES n=27	OTRAS MUESTRAS n=30	SANGRE n=109
Oxacilina	93,8	95,2	87,5	81
Eritromicina	87,5	81,8	59,1	66,7
Trimetoprima/Sulfa	58,3	27,3	54,5	52,4
Clindamicina	68,8	50	45,5	59,5
Gentamicina	68,8	68,2	50	54,8
Ciprofloxacina	62,5	50	31,8	42,9
Cloramfenicol	38,3	26,3	50	30
Vancomicina	0	0	0	0

Fuente: datos experimentales

En la Gráfica 3 se observa una comparación de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente y cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina sensible y los perfiles de resistencia de antibióticos no β -lactámicos que les acompaña. Se observa la multiresistencia existente en cepas oxacilina resistente versus las cepas oxacilina sensible.

Gráfica 3. Cepas oxacilina sensible vs. resistente y su comparación con antibióticos no β -lactámicos



Fuente: datos experimentales

La Tabla 4 presenta los ocho aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo con mecanismo Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas inducible (MLS_i), cinco aislamientos pertenecen a la Unidad de cuidados intensivos de pediatría y neonatología. También se muestra que el mecanismo MLS_i no esta relacionado con el gen mec-A.

Tabla 4. Aislamientos de cepas con mecanismos MLS_i y mec-A.

MICROORGANISMO	SALA	PACIENTE	MUESTRA	MLS_i	MEC-A
<i>S. epidermidis</i>	UCI	Pediátrico	Catéter	P	A
<i>S. epidermidis</i>	UCI	Pediátrico	Traquea	P	A
<i>S. epidermidis</i>	UCI	Pediátrico	Catéter	P	A
<i>S. epidermidis</i>	UCI	Neonato	Sangre	P	A
<i>S. hominis</i>	UCI	Neonato	Sangre	P	A
<i>S. epidermidis</i>	Intensivo	Adulto	Catéter	P	A
<i>S. epidermidis</i>	Am	Pediátrico	Secreción	P	A
<i>S. epidermidis</i>	Am	Adulto	Secreción	P	A

Fuente: datos experimentales

UCI: Unidad de cuidados intensivos Am: Ambulatorio P: Presente A:Ausente

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El *Staphylococcus* coagulasa negativo, que reside en la piel y mucosas humanas, está adquiriendo relevancia clínica, debido a su creciente papel como patógeno oportunista, el cual está relacionado con la mayor invasividad de los procedimientos médicos diagnósticos y terapéuticos y la generalización del uso de catéteres y dispositivos endovenosos (24).

En la Gráfica 1 se observa que el *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus haemolyticus* predominan en los aislamientos, a nivel hospitalario estas especies de *Staphylococcus* son las principales causantes de infección nosocomial (24).

En el Hospital General San Juan de Dios la resistencia está presente en todas las especies, principalmente en *S. haemolyticus* y *S. epidermidis*. Los antibióticos no β -lactámicos más afectados son la eritromicina, clindamicina y trimetoprima/sulfametoxazole. En la resistencia hacia estos antibióticos están involucrados varios factores que favorecen la diseminación de la resistencia en la población; son antibióticos de uso común. Es importante notar que entre los pocos antibióticos que suelen ser eficaces contra *Staphylococcus* oxacilina resistente se encuentra trimetoprima/sulfametoxazole (35), evidencia el alto fracaso de la terapéutica con este antibiótico (Tabla 1).

El cloranfenicol es el antibiótico que presentó menor resistencia, 37.6 por ciento como se presenta en la Tabla 1. Este es un antibiótico de espectro muy amplio, sin embargo puede producir una anemia aplásica por su toxicidad en la médula ósea, que puede llegar a ser mortal. Por ello su empleo se restringe al uso tópico, así como para el tratamiento de infecciones que no responden a otros antibióticos (35).

Los glicopéptidos son antibióticos muy activos frente a los *Staphylococcus* coagulasa negativo, incluso los resistentes a oxacilina. Se emplean en infecciones hospitalarias graves (35). En este estudio la resistencia que tienen los aislamientos hacia la vancomicina es del 0 por ciento, estos resultados indican que puede ser un antibiótico de elección para aislamientos multiresistentes en el Hospital General San Juan de Dios.

La distribución de resistencia en los servicios es diversa, predomina según los resultados de la Tabla 2, las Unidades de cuidados intensivos, seguido de Medicina-Cirugía y los servicios de Emergencia-Ambulatorios. Esto se puede deber, a que el paciente intrahospitalario, y sobre todo el recluido en las Unidades de cuidados intensivos, tiende a modificar su microbiota endógena por la colonización de microorganismos propios de la microbiota nosocomial de gran potencialidad patogénica (41). La Gráfica 2 muestra los perfiles de resistencia más bajos para los servicios de Consulta externa de pediatría y adultos. Los pacientes de tipo extrahospitalario no han sido sometidos a la cantidad de antibióticos que son suministrados a los pacientes de los intensivos y por lo tanto, las cepas no se observan tan seleccionadas.

De las Unidades de cuidados intensivos, el Intensivo de pediatría y el Intensivo de neonatología tienen los mayores porcentajes de resistencia (Tabla 2); esto se explica por la mayor ocurrencia de pacientes más vulnerables y manipulados en tales servicios, además el hacinamiento propaga las bacterias de este tipo de pacientes. Otro aspecto en cuanto a la propagación de la resistencia en estos servicios es la presión de agentes terapéuticos a que son sometidos los *Staphylococcus*, lo que genera una selección de bacterias resistentes eliminando las sensibles (38). Los menores perfiles de resistencia y mayor número de aislamientos se obtuvieron en los servicios de Consulta externa y Emergencia de pediatría (n=56); como se muestra en la Gráfica 2, en estos servicios no hay presión de selección debido a que son pacientes de reciente ingreso al hospital, esto explica la menor resistencia encontrada en estos servicios.

El mayor porcentaje de resistencia antimicrobiana en las muestras estudiadas, (Tabla 3), está dado por cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo aisladas de catéter, secreciones, otras muestras y sangre respectivamente. La mayor parte de los aislamientos obtenidos de las muestras de catéter provienen de los servicios de Intensivo de pediatría y Unidad de cuidados intensivos, siendo *S. epidermidis* la especie de *Staphylococcus* predominante en número y porcentaje de resistencia, resultados que coinciden con estudios anteriores. Una razón de esto puede ser a que los *Staphylococcus* se adhieren a los dispositivos plásticos por una sustancia polisacárida que facilita la adherencia de éstos a los

catéteres y el material sintético. *S. epidermidis* predominó ya que es uno de los principales microorganismos que forman parte de la microbiota normal de la piel. La mayor resistencia se debe a que el paciente con este tipo de dispositivos se encuentra bajo tratamiento antimicrobiano creando resistencia a este tipo de microorganismos por la exposición del antibiótico (25). La resistencia en las muestras de secreciones se debe a que una lesión en el tejido favorece la invasión de *Staphylococcus* y muchas veces cambia la microbiota normal por microbiota nosocomial que suelen ser más resistentes (41). Las muestras clasificadas como otras muestras también presentaron cierto grado de resistencia, particularmente a la oxacilina lo que indica que la resistencia antimicrobiana por *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente esta diseminada en la mayoría de muestras estudiadas.

Las muestras de sangre (n=109) fueron las muestras en las que más se aisló el microorganismo en estudio (Tabla 3) y las que presentaron menor resistencia. Cuando el microorganismo aislado corresponde a microbiota de la piel, se debe distinguir de una septicemia verdadera o de una contaminación. Se ha establecido que de los *Staphylococcus* coagulasa negativo aislados de un solo hemocultivo, un 94 por ciento corresponden a contaminación. Se considera como septicemia verdadera el aislamiento del mismo microorganismo en varios hemocultivos. Sin embargo debe considerarse que se encuentra aumentado el valor predictivo de aislar *Staphylococcus* coagulasa negativo en hemocultivos de poblaciones de alto riesgo, como trasplante de médula ósea, neoplasias hematológicas y pacientes de Unidades de cuidados intensivos (55).

Se consideró contaminación a los *Staphylococcus* coagulasa negativo provenientes de los hemocultivos, debido a que estos microorganismos indican una deficiente recolección de las muestras clínicas. La mayoría de aislamientos provienen de Emergencia de pediatría, generalmente, los pacientes que se encuentran en esta unidad, son de reciente ingreso y no han tenido contacto con microbiota hospitalaria, además, son los microorganismos de menor resistencia. Es muy frecuente que estos microorganismos causen septicemias, pero para descartar una contaminación en la toma de muestra se recomienda hacer de dos a tres hemocultivos por paciente. Indirectamente, esta situación genera un gasto derivado del

costo de las pruebas microbiológicas y de la prolongación de la estancia hospitalaria generando a la vez un impacto económico para la institución y el paciente (55).

La presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente se debe a tres razones: i) sustitución de las enzimas de membrana que participan en la síntesis de la pared bacteriana y que son al mismo tiempo los blancos naturales de los β -lactámicos; ii) las PBP, la PBP2a cumple la misma función de síntesis de la pared bacteriana pero tiene menor afinidad por los β -lactámicos y, iii) el determinante genético de la resistencia a la oxacilina es el gen *mec-A* que se encuentra en un fragmento de ADN cromosómico bacteriano de 30 a 40 kb, que no se encuentra en las cepas sensibles. Este fragmento de ADN adicional promueve además la inserción de plásmidos y transposones de resistencia a otros antibióticos, determinando así una evolución progresiva y continua de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente hacia la multiresistencia (56).

En el estudio se observaron falsas susceptibilidades de antibióticos β -lactámicos en los reportes realizados por el equipo automatizado MicroScan, en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General San Juan de Dios. Esto se debe a que cuando un *Staphylococcus* coagulasa negativo es oxacilina resistente, se debe reportar como resistente a todos los β -lactámicos. Las falsas susceptibilidades de β -lactámicos en muchos casos documentados de infecciones de *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente han respondido pobremente a la terapia con β -lactámicos y no hay datos clínicos convincentes que documenten la eficacia clínica de estos agentes. Esto significa que todas las penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes y otros agentes β -lactámicos pueden aparecer activos *in vitro* pero no son clínicamente eficaces (52).

Al realizar los antibiogramas por el método de Difusión por disco en el Laboratorio Nacional de Salud, se determinó un 88 por ciento de cepas oxacilina resistente. Estos resultados se corroboraron para saber si ésta resultaba por la presencia de β -lactamasas o del gen *mec-A*, porque es raro que los *Staphylococcus* coagulasa negativo oxacilina resistente adquieran dicha resistencia por otra causa que no sea el gen *mec-A*. El 100 por

ciento de cepas oxacilina resistente son portadoras del gen mec-A lo que explica la multiresistencia, presentada en la Gráfica 3.

Se observó que el *Staphylococcus* más afectado con el mecanismo MLSi es *S. epidermidis*, cuya frecuencia fue mayor en la Unidad de cuidados intensivos de pediatría. Previo a esto se creía que la causa de la transferencia de este mecanismo era la presencia del gen mec-A, ya que en la mayoría de casos las bacterias que adquieren este gen desarrollan multiresistencia, pero en la Tabla 4 se observa que este no es el caso.

X. CONCLUSIONES

1. En el Hospital General San Juan de Dios *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus haemolyticus* son las especies más aisladas y multiresistentes.
2. En las muestras de catéter el *Staphylococcus epidermidis* fue el microorganismo más frecuentemente aislado y el que presentó el porcentaje más alto de resistencia..
3. Las cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo multiresistentes están diseminadas en todos los servicios del hospital.
4. Los servicios que presentaron los mayores perfiles de resistencia por parte de *Staphylococcus* coagulasa negativo son los de las Unidades de cuidados intensivos.
5. Los aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativo provenientes de sangre presentaron los menores porcentajes de resistencia antimicrobiana.
6. En las cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo se encontraron mecanismos de resistencia MLSi, β -lactamasas y gen mec-A.
7. Los macrólidos son los antibióticos no β -lactámicos más afectados cuando hay presencia de β -lactamasas.
8. Trimetoprima/sulfametoxazol presentó el 72 por ciento de resistencia, por lo tanto no es una droga alternativa para el tratamiento de las infecciones no graves por *Staphylococcus* coagulasa negativo resistente a la oxacilina.
9. En el Hospital General San Juan de Dios no hay cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo vancomicina resistente.

XI. RECOMENDACIONES

1. Seguir los lineamientos estipulados por la CLSI para el manejo de los reportes de sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus coagulasa negativo*
2. Establecer un programa de vigilancia de antimicrobianos y crear medidas correctivas urgentes en las Unidad de cuidados intensivos.
3. Desarrollar programas de formación continua del personal sanitario acerca de las medidas higiénicas básicas en el cuidado de los pacientes y en la recolección de muestras para cultivo, incidiendo de esta manera no solo la reducción de las contaminaciones sino también en la infección cruzada.

XII. REFERENCIAS

1. Figueroa C., *et al.* Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en niños: encuesta de 21 hospitales en México: Revista Salud Pública de México. 1999. 4 nov. 2003. www.insp.mx-salud.com
2. Funcei. Identificación y Susceptibilidad Aplicada para el Cono Sur. 1999. 59 p.
3. González P., Cocos de Importancia Médica. Revista Médica. 2000. 4 nov 2003. www.virtual.com.
4. Koneman EW. Diagnóstico Microbiológico. 5 ed. Estados Unidos: Editorial Médica Panamericana. 1999. 1359 p.
5. Murray., *et al.* Microbiología Médica. 2 ed. España: Iberoamericana. 1995. 725 p (47-63 p).
6. Macffadin J. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. LiPgincott Williams & Wilkins Company. Estados Unidos. 2000.
7. Filizola B., Gomen B., *et al.* Infectología. Revista CAMIF. México. www.Drscope.com. 1996. Tomo 3.
8. Yoklik W., *et al.* Microbiología. 20 ed argentina: Médica Panamericana. 1997. 1629 p (529-534).
9. Torres M. Manual Práctico Bacteriológico Médica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: 1996. 229 p.
10. Jawetz E. Manual de Microbiología Médica. 3 ed México: El Manual Moderno. 1990. 589 p (185-189).
11. The HiMedia., Manual for Microbiology Laboratory Practice. Laboratorios HiMedia Estados Unidos. 1998.
12. Marcus A., *et al.* Manual de Diagnóstico Clínico y de Laboratorio. 8 ed. México: Manual Moderno, S.A. 1986. 790 p.
13. Gini G. Manual de procedimientos para la identificación de las bacterias con importancia clínica. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1993. 123 p.
14. Koneman EW. Atlas and text book of diagnostic Microbiology. 4 ed. Philadelphia: JB. Lippincontt Company. 1992. 1115 p (407-418).

15. Zinsser. Microbiología. 20 ed. Argentina: Médica Panamericana S.A. 1992. 571-572.
16. Díaz R., *et al.* Manual Práctico de Microbiología. España. Masson S.A. 1995. 200 p (122-126)
17. Bernad D., *et al.* Tratado de Microbiología. 4 ed. España: Masson, S.A. 1996. 1145 p (519-530).
18. Youmans GP., *et al.* Infectología Clínica. 2 ed. México: Interamericana. 1984. 956 p (722-731).
19. Voluels F., Effects of topical erythromycin on ecology of aerobic cutaneous bacterial flora. Nov 1996. 1 Mayo 2004. <http://aac.asm.org/cgi/content/40/11/2598>
20. Tietz Norbert W. Guía Clínica de Pruebas de Laboratorio. Buenos aires: Médica Panamericana S.A. 1992. 712 p (693-696).
21. Malagón G., Hernández L. Infecciones Hospitalarias. Colombia: Médica Panamericana. 1995. 931 p
22. Verdaguer Rius R., *Staphylococcus lugdunensis*. 18 Abril de 2004. <http://articulos180404/Staphylococcuslugdunensis.htm>.
23. Barranco R., *et al.* Principios de Urgencias, Emergencias y Cuidados Críticos. 1999. 18 Abril 2004. [A:/Articulos 180404/12-5-3-sepsis en el recién nacido.htm](A:/Articulos%20180404/12-5-3-sepsis%20en%20el%20recien%20nacido.htm)
24. Fernández C. Los *Staphylococcus* coagulasa negativo ganan terreno entre las nosocomiales. Diario Médico. Barcelona. 2002. 5 Agosto 2005 www.diariomedico.com.
25. Sanchez M. Guía para el manejo del catéter venoso central. 12 Nov 1998. 7 Julio 2005. [A:/articulos180404/guía para el manejo del catéter venoso central.htm](A:/articulos180404/guía%20para%20el%20manejo%20del%20catéter%20venoso%20central.htm)
26. Trucco AO., Prado JD., Durán TC., Red de vigilancia de resistencia antimicrobiana pronares. 2002. 28 Abril 2004. <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v1952/art15.pdf>.
27. Bantar C., *et al.* Sistema Informático de Resistencia subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC. 1999.
28. Grupo Médico. Infecciones causadas por cocos. 2004. 1 Mayo 2004. www.msdes.com/publicaciones/mmerck-hogar/sección-17/seccion-17-178.html
29. Díaz L. *Staphylococcus* resistentes: uso del disco de oxacilina como marcador de resistencia. Revista cubana Médica Militar. Cuba. 2001.

30. García LF. Factores asociados con infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina adquiridos en el Hospital General San Juan de Dios. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2002. 46 p
31. Banko M., *et al.* Treatment of Experimental Staphylococcal Endocarditis Due to a Strain with Reduced Susceptibility In Vitro to Vancomycin: Efficacy of Ampicillin-Sulbactam .Oct 1999. 18 Abril 2004. <http://aac.asm.org/cgi/content/full/43/10/2565>.
32. Ramos MC., Kim E. Ampicillin-Sulbactam is affective in prevention and therapy of experimental endocarditis caused by β -lactamase producing coagulase negative Staphylococci. 1996. 1 Mayo 2004. <http://aac.asm.org/cgi/content/full/40/1/97>.
33. Bayer A. Li L., *et al.* Efficacy of Experimental of trovafloxacin, a new Quinolone Antibiotic, in Experimental Staphylococcal Endocarditis Due to OxacillinResistantstrains.2003.27Abrilde2004.<http://aac.asm.org/cgi/content/full/4277/183>
34. Bergolio M. Antibióticos. 5 ed. Argentina: Médica Panamericana. S.A. 1993. 491 p (1-30)
35. Glaxosmithkline. Antibióticos, descripción, mecanismo de acción y efectos adversos. 2004. 5 Agosto 2005. www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm
36. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Método de Determinación de Sensibilidad Antimicrobiana por Difusión. Guatemala: 2002.
37. John H. Diagnóstico y tratamientos Clínicos por el Laboratorio. 8 ed: España. Salvat S.A. 1988. 1774 p.
38. Tripod. Antibióticos. 2003. 1 mayo 2004. www.apoyofq.tripod.com/cuerpo/antibioticos.htm
39. González I., *et al.* Resistencia a las penicilinas en la Habana. Revista cubana.Cuba.www.encolombia.com/medicina/Infectología/panamericana5/102-resistencia.3htm.
40. Ayala Muralles A. Identificación de patrones de resistencia a los antibióticos de cepas de estafilococos aislados en el Hospital regional de Occidente. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 96 p.

41. León Jaramillo E. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Caldas. Médica. Colombia: 1994. 7 Julio 2005. <http://colombiamedica.univalle.edu.co/VOL27NO2/resistencia.html>.
42. Díaz Soto. Valoración *in vitro* de discos para Antibiogramas de Producción Nacional. Revista Médica Militar. Cuba: 1998. 106 p. www.infomed.sls.com
43. Reyes J., *et al.* Vigilancia de resistencia a antibióticos en estafilococos. Universidad El Bosque. Colombia. www.infecto.org/u6n2/resu/resu03.htm
44. Bantar C., Famiglietti A., *et al.* Análisis de los dos cortes de prevalencia del año 1999. Sistema Informático de Resistencia. www.drwebsa-com.ar/aam/bol144/144-07htm
45. Williams RJ. Ryan., MJ. Vigilancia Internacional de la resistencia antimicrobiana. 2004. 29 Abril de 2004. www.scielosp.org/scielo
46. Rocha L. Vigilancia de la infección nosocomial en la UCI. 2002. 20 abril 2004. <http://ab.dogma.es/cgi=bin/wdbcgi.eve/doyma>.
47. Instituto Nacional de Salud. Resistencia a antimicrobianos en el Perú. 2002. 29 abril de 2004. www.ins.gob.pe/down/cads/boletín/reporte
48. Jang A., *et al.* Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics, in Gram-positives cocci isolated in a Korean hospital. 2002. 1 Mayo 2004. <http://aac.asm.org/cgi/content/full/49/10/489>
49. Loncle V., *et al.* Analysis of pristinamycin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates responsible for an outbreak in a Parisian hospital. Oct 1993. 1 Mayo 2004. <http://aac.asmg.org/cgi/content/full/37/10/2159>.
50. Red de Vigilancia de la Resistencia. Chile. Organización Panamericana de la Salud. Marzo 2004. 5 Diciembre 2004. [http://Staphylococcus+negativo+infección nosocomial&hh=es](http://Staphylococcus+negativo+infección+nosocomial&hh=es).
51. Jarvis W. Selected Aspects of the Socioeconomic Impact of Nosocomial Infections: Morbidity, Mortality, cost and Prevention. Infect Control Hospital Epidemiology. 1996. 554-556 p.
52. Resistencia Antimicrobiana en las Américas Magnitud del Problema y su Contención. Washington. Organización Panamericana de la Salud. Doc. Tec. 2000. 267 p.
53. Danival. El antibiograma por difusión, Kirby Bauer. 2003. 13 Julio 2005. <http://www.danival.org/org/micrgclin/antibiot/madreantibiot.html>.

54. Seimc. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. 2000. 1 Mayo 2004. www.seimc.org/protocolos/microbiología/cap11.htm.
55. García P., Perez C. Hemocultivos. Boletín Escuela de Medicina. Chile. 1997. 27 Julio 2005. <http://escuela.med.pue.cl/publ/Boletín/Laboratorio/Hemocultivos.htm>.
56. Velásquez J., *et al.* Vigilancia de la Resistencia de *Staphylococcus aureus* a la oxacilina-vancomicina y patrones de coresistencia. 2002. 23 Julio 2005. www.scielo.org.ve/scielophp?pid=s1315-255620030002000/7&script=sci-arttext.