

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



**DETERMINACIÓN DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA DE  
*Staphylococcus spp.* AISLADOS EN EL LABORATORIO NACIONAL  
DE SALUD EN EL PERÍODO DEL 2002 A MAYO DEL 2004**

**INFORME DE TESIS**

Presentado por

**CLAUDIA EUGENIA ALBUREZ CALVO**

Para optar al título de

**QUÍMICA BIÓLOGA**

**GUATEMALA, JUNIO 2006**

## JUNTA DIRECTIVA

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

## **ACTO QUE DEDICO**

### **A DIOS OMNIPOTENTE**

Por permitirme haber llegado al final de mi carrera.

### **A MI PADRE:**

Edgar Alburez Pérez

Gracias papi, por inculcar en mí valores morales y humanos que son base de mi existencia.

### **A MI MADRE:**

Beatriz Eugenia Calvo de Alburez

Gracias mami, por tus sabios consejos, tu amor incondicional, comprensión y todo el apoyo que me diste a lo largo de mi carrera y que me sigues dando en todo momento. Que este triunfo sea una recompensa a tus múltiples esfuerzos.

### **A MIS HERMANOS:**

Jorge Raúl Alburez Calvo (Q.E.P.D)

Edgar Rodrigo Alburez Calvo

Que este triunfo sea un ejemplo a seguir.

### **A MIS ABUELITOS**

Alvaro Calvo Mendizábal (Q.E.P.D) y Josefina Pérez de Calvo.

Francisco Alburez y Antonieta de Alburez (Q.E.P.D).

### **A MIS AMIGOS:**

Maricielo López, Lisbeth Pensamiento, Miriam Barrera, Heidy Barrios, Claudia Santisteban, Gloria Samayoa, Cesar Racancoj, Antonio Nájera y Edgar Valdez  
Por acompañarme en las buenas y en las malas y ser incondicionales en todo momento.

### **A MI ASESOR:**

Jorge Raúl Matheu

Por su ayuda y aporte de conocimientos a la realización del presente trabajo.

Gracias por su tiempo y amistad.

### **A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

### **A MIS PADRES**

Quienes me enseñaron el amor y la amabilidad.

### **A MIS HERMANOS**

Por formar parte de mi vida y hacerla más completa.

### **A MIS AMIGOS**

Por hacer de toda mi carrera una experiencia inolvidable.



## ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
A. Generalidades de los <i>Staphylococcus</i> spp.	3
Metabolismo y Genética	4
Aislamiento e Identificación	5
a. Diferenciación con otros géneros	6
b. Diferenciación entre especies	7
B. Infecciones causadas por <i>Staphylococcus</i> spp.	8
C. Antibióticos	10
Acción de los antibióticos	11
a. Penicilinas	12
b. Penicilinas resistentes a la penicilinas	13
c. Macrólidos	14
d. Aminoglucósidos	15
e. Glicopéptidos	16
f. Quinolonas	17
g. Lincosaminas	18
D. Resistencia bacteriana	18
Bases bioquímicas de la resistencia	20
Mecanismos de resistencia	22
Detección de <i>Staphylococcus</i> resistentes	23
Meticilino/Oxacilino resistencia	23
<i>Staphylococcus</i> MLS resistentes	24
E. Epidemiología de la resistencia antimicrobiana de <i>Staphylococcus</i> spp. en Guatemala	25
F. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana	26
IV. JUSTIFICACIÓN	29
V. OBJETIVOS	30
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	31
VII. RESULTADOS	36
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	44
IX. CONCLUSIONES	48
X. RECOMENDACIONES	49
XI. REFERENCIAS	50
XII. ANEXOS	54

## I. RESUMEN

El Laboratorio Nacional de Salud entre otras funciones realiza análisis bacteriológicos en apoyo a otros laboratorios, principalmente de los hospitales nacionales del país, donde constantemente aparecen aislamientos de bacterias multirresistentes a los antibióticos utilizados de rutina. Gran parte de estos aislamientos están bien definidos según la literatura mundial (24,26,27), sin embargo, en nuestro país se hace necesario investigar dicha resistencia con el fin de determinar las bacterias localmente involucradas con más frecuencia en la resistencia o sensibilidad a los antibióticos. Esto se logrará por medio de la utilización de antibiogramas adecuados para obtener datos confiables; pudiendo así mejorar las condiciones en los hospitales y de esta forma poder evitar que sigan apareciendo bacterias cada vez más resistentes.

Se realizó un estudio descriptivo sobre dos mecanismos importantes de resistencia de *Staphylococcus* spp. responsable de la mayoría de infecciones intrahospitalarias; el MRS (metilino-resistencia) y el MLS (macrólidos-lincosaminas-estreptograminas).

Se utilizó el total de aislamientos de *Staphylococcus* colectados (113) del periodo del año 2002 a mayo del 2004 de 16 hospitales nacionales. La procedencia más alta de MRS y MRSA fue del hospital General San Juan de Dios y la más baja en el hospital de Sololá.

La procedencia más alta en MLS fue del hospital de Coatepeque y la más baja en el hospital de Antigua Guatemala.

De los 113 aislamientos se encontraron 68 positivos para los mecanismos analizados (MLS o MRS) y los 45 restantes no presentaron los mecanismos mencionados, clasificándose los aislamientos positivos de la siguiente forma: 38 aislamientos de *Staphylococcus aureus* MRS positivo, 17 de *Staphylococcus coagulasa negativo* MRS positivo, 11 *Staphylococcus aureus* MLS resistentes y 2 *Staphylococcus coagulasa negativo* MLS resistentes. A los datos encontrados se le realizó un análisis de frecuencia por medio del programa WHONET.

De los resultados obtenidos se observó que la mayoría de casos de resistencia en ambos mecanismos fueron encontrados en *Staphylococcus aureus*, que presentó una diferencia significativa comparado con *Staphylococcus coagulasa negativo*, lo que indica la habilidad de estos para crear mecanismos de resistencia más especializados.

## II. INTRODUCCIÓN

Los *Staphylococcus* son responsables de la mayoría de infecciones intra hospitalarias, asociándose frecuentemente a la presencia de *S. aureus*.

Estas bacterias han adquirido una gran capacidad de resistencia observándose en el peor de los casos resistencia a tres o más antibióticos de diferentes familias (multiresistencia). El uso irracional y abuso de los antimicrobianos, aunado a la patogenicidad de *Staphylococcus*, han creado un ambiente difícil de controlar sin medidas y acciones adecuadas, aumentándose drásticamente las tasas de morbilidad y mortalidad. El problema de multiresistencia ha ido aumentando en los últimos años, y es una situación que se vive diariamente en los hospitales de nuestro país, dificultando el control de las enfermedades causadas por estas bacterias, dado a que generalmente se ignora este problema y se proporciona un tratamiento poco adecuado a los pacientes.

Con este estudio se determinó que hay existencia de estos mecanismos, tanto de los *Staphylococcus* resistentes a la meticilina (MRS) en donde se encontró la mayoría de casos, así como de los *Staphylococcus* resistentes a macrólidos, lincosaminas y estreptograminas (MLS), aunque en menor proporción comparado con los casos de meticilino resistencia, en los Hospitales Nacionales capitalinos y departamentales de nuestro país.

El estudio se llevó a cabo en el área de Bacteriología de la Unidad de Diagnóstico Humano del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, haciendo uso de 113 aislamientos de *Staphylococcus* spp., utilizándose la técnica de Bauer-Kirby, con la mezcla de antibióticos seleccionados.



### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades de *Staphylococcus* spp.

##### 1. Clasificación

La familia Micrococcaceae se halla ampliamente distribuida en la naturaleza como saprofitos de vida libre, parásitos y formas patógenas. El estafilococo es el único género de importancia médica en esta familia. Se han reconocido tres especies importantes: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* aunque también se han aislado otras especies todas ellas coagulasa-negativas (1,2).

##### 2. Morfología

Los estafilococos son cocos Gram-positivo, inmóviles, que se presentan aislados, en pares, en cadenas cortas o en racimos irregulares; miden entre 0.8- 1 micra de diámetro; unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo (1,2).

##### 3. Características del cultivo

El estafilococo es un anaerobio facultativo pero su desarrollo es más abundante en condiciones aerobias; algunas cepas también requieren una alta tensión de CO<sub>2</sub>. La proliferación ocurre en un amplio rango de temperatura que va de 6.5 hasta 46 °C con una temperatura óptima de 30 a 37 °C para *S. aureus*. El pH óptimo es de 7 – 7.5 (3) .

Los estafilococos producen ácido a partir de la glucosa en condiciones anaeróbicas, producen ácido a partir del glicerol en presencia de energía y son susceptibles a lisis por efecto de la lisostafina (1) .

En placas de agar las colonias crecen con un diámetro de 1 – 4 mm, son lisas, opacas, redondas, circulares convexas, bajas, frecuentemente con un pigmento amarillo, de aspecto pastoso y fácil de emulsificar (4) . Presentan requerimientos nutricionales complejos, pero se desarrollan en casi todos los medios de laboratorio de rutina; y son los microorganismos más resistentes entre las bacterias no esporuladas debido a que permanecen vivos durante varios meses en la superficie de las placas de agar mantenidas a 4°C (5) .

Algunas especies de estafilococos como *S. aureus* y coagulasa-negativo, pueden presentar una zona evidente o difusa de β-hemólisis alrededor de las colonias (6).



#### 4. Metabolismo

Los *Staphylococcus* obtienen la energía a través de las vías respiratoria o fermentativa, utilizan una amplia gama de azúcares y otros carbohidratos. En condiciones aeróbicas el principal producto de la utilización de la glucosa es el ácido acético con pequeñas cantidades de CO<sub>2</sub> ; en condiciones anaeróbicas el ácido láctico es el producto principal, también se produce acetoina (2,3) .

La mayoría de las cepas crecen en presencia de NaCl al 4% y a temperatura entre 18 - 40° C (7). Pueden crecer en un medio de cultivo químicamente definido, que tenga dentro de su composición 14 aminoácidos, glucosa, sales minerales y dos factores de crecimiento, tiamina y ácido nicotínico (3) .

#### 5. Genética

Las implicaciones médicas de la variabilidad no fueron totalmente comprendidas hasta la espectacular aparición de las cepas resistentes a los antibióticos; primero a la penicilina y luego sucesivamente a cada uno de los antibióticos incluidos en los planes terapéuticos. Cerca del 10% del total del ácido desoxirribonucleico (ADN) celular que se encuentra naturalmente en los microorganismos es ADN de plásmidos, dado que estos elementos genéticos tienen la capacidad de evolucionar con gran rapidez imparten a la población de células que los transportan una mayor capacidad para sobrevivir en condiciones viables del medio que las células que contienen un ADN uniforme (2) .

Las bacterias crecen en la superficie de medios nutrientes sólidos en los que producen colonias compuestas por miles de células derivadas de una única célula madre inoculada en la superficie del agar. Las colonias de las diferentes especies tienen a menudo morfologías características, que pueden dar una pista de su probable identidad. La mayoría de las especies tardan entre 12-48 horas para que sus colonias lleguen a ser macroscópicamente visibles, pero algunos microorganismos se multiplican mucho más lentamente (8) .

## 6. Aislamiento

### a. Aislamiento primario

Todos los estafilococos crecen con mucha facilidad en la mayoría de los medios de cultivo bacteriológicos, tanto en aerobiosis como en microaerofilia, pero el cultivo recomendado para aislamiento primario es el agar sangre de camero, en el cual se desarrolla rápidamente después de 24 horas de incubación a 37°C (4,9).

### b. Medios de cultivo selectivos

Las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden fermentar manitol y formar ácido, el manitol sal contiene una alta concentración de sales las cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos y recupera selectivamente a los estafilococos (3).

## 7. Identificación y diferenciación de estafilococos

El primer paso para establecer la identidad de una bacteria desconocida es determinar su forma y reacción de Gram. Estos datos, aunados a un mínimo de información adicional (como requerimientos de oxígeno para su crecimiento y las características de sus colonias), son suficientes para colocar al organismo en un género específico. Sin embargo, en la identificación posterior se necesita del uso de técnicas bioquímicas, serológicas o genéticas para obtener información necesaria para dar una designación de especie o subespecie (10).

La capacidad para metabolizar azúcares específicos es una base importante para la identificación de especies. Con frecuencia esto se logra realizando una prueba para valorar la producción de ácido mediante la incorporación de un indicador ácido-base en el medio que contiene azúcar. Las diferencias entre las diversas especies de géneros se puede comparar con el uso de ensayos calorimétricos para detectar la presencia de diversas enzimas. Las clasificaciones serológicas se usan en forma común para distinguir las diferencias entre las especies dentro de un género determinado. Estas pruebas emplean antibióticos con pruebas muy susceptibles y específicas para evaluar la presencia de diversas conformaciones antigénicas presentes en la superficie de la bacteria (10).

El género *Staphylococcus* está constituido por diecinueve especies y se diferencian de otros géneros de la familia, en base al contenido de guanina y citosina (G + C) en el ADN, composición de la pared celular y su habilidad de crecer anaeróbicamente y fermentar la glucosa bajo esas condiciones (11).

Las colonias de estafilococos generalmente son opacas y convexas; presentan una consistencia cremosa, pueden ser blancas o bien mostrar una variada gama de tonos amarillos, principalmente después de una incubación prolongada o de haber permanecido a temperatura ambiente durante varios días (3).

a. Diferenciación con otros géneros

i. Prueba de la catalasa

Se utiliza para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo; es usada para diferenciar entre los géneros estafilococos, los cuales presentan una reacción positiva (producción de burbujas en el momento en que entra en contacto la colonia con una gota de peróxido de hidrógeno) y estreptococos los cuales presentan una reacción negativa. Si se usan cultivos procedentes de agar sangre, se debe tener el cuidado de no retirar agar con el asa al picar la colonia ya que los eritrocitos del medio contienen catalasa y su presencia daría un resultado falso positivo (12).

ii. Prueba de furazolidona

Prueba usada para diferenciar entre los géneros *Staphylococcus* de los *Micrococcus*. Se realiza por un procedimiento de discos de susceptibilidad, utilizándose discos de 100 µg del compuesto furoxone (también llamado furazolidona). Las especies del género *Staphylococcus* son susceptibles a este compuesto, presentando halos de inhibición de 15 mm o más; mientras que los *Micrococcus* sp. son resistentes presentando halos de inhibición menores de 9 mm (3).

iii. Prueba de lisostafina

La lisostafina es una endopeptidasa que se adhiere a los puentes cruzados de pentapéptidos ricos en glicina; se encuentran en la pared celular de los estafilococos lo cual le proporciona a las células susceptibilidad a la lisis osmótica. Se realiza por un procedimiento de discos de susceptibilidad, utilizándose discos de 200 µg. Sirve para diferenciar entre los géneros de *Staphylococcus* y *Micrococcus*, siendo las especies del género *Staphylococcus* susceptibles mostrando zonas de inhibición de 10-16 mm de diámetro. Las especies de *Micrococcus* no muestran ninguna zona de inhibición alrededor del disco, por lo tanto son resistentes (3).



## a. Diferenciación entre especies

### i. Prueba de la coagulasa

La coagulasa es una enzima que estimula la conversión del fibrinógeno en fibrina. Mediante el enlace de la enzima a la protrombina se forma un complejo enzimáticamente activo que inicia la polimerización a la fibrina; cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con el plasma en un tubo de ensayo y se incuba a 37°C, se provocará la formación de un coágulo visible (3,13). Esta prueba se utiliza para diferenciar entre *S. aureus* (coagulasa positivo), de otras especies de *Staphylococcus* que presentan la reacción negativa. La producción de coagulasa y la  $\beta$ -hemólisis son dos características estrechamente relacionadas con *S. aureus*, aunque la primera es más confiable (3).

### ii. Fermentación de manitol

La mayor parte de las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden fermentar manitol y formar ácido, lo cual no sucede con los otros *Staphylococcus* coagulasa negativos. Un medio excelente para la recuperación de estafilococos patógenos de poblaciones bacterianas mixtas es el agar-manitol sal (3).

### iii. Prueba de la desoximibonucleasa (ADNasa)

Muchas cepas de *S. aureus* producen desoximibonucleasa, una enzima usada como una prueba adicional para la identificación de *S. aureus*; hay dos formas para realizar la prueba, la más usada se basa en el agregado de azul de toluidina O a la base agar nutriente. A medida que el microorganismo crece y produce ADNasa, el agar que rodea las colonias de *S. aureus* cambia de color azul a rosa, lo que indica la hidrólisis del ADN (3).

### iv. Prueba de nucleasa termoestable

*Staphylococcus aureus* produce la enzima endonucleasa, la cuál es estable en una combinación de temperatura/tiempo (estable después de 15 minutos de ebullición); sirve para diferenciar *S. aureus* de otras especies de estafilococos, siendo positivo y negativo respectivamente. El resultado se lee de la misma manera que en la prueba ADNasa, según el medio empleado (3).



#### v. Prueba de susceptibilidad a la novobiocina

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo pueden dividirse en especies novobiocina-susceptibles y novobiocina-resistentes. La mayor parte de las cepas de *S. saprophyticus* son resistentes a la novobiocina, característica que ha sido utilizada para diferenciarlo de *S. aureus*, *S. epidermidis* y de otros estafilococos coagulasa-negativos. Esta prueba es un método confiable para la identificación presuntiva de *S. saprophyticus* el cuál mostrara una zona de inhibición de 6-12 mm, es decir que es resistente; mientras que otros *Staphylococcus* coagulasa negativo y *S. aureus*, presentan zonas de 17-27 mm, por lo tanto, son susceptibles (3).

#### B. Infecciones causadas por *Staphylococcus* spp.

Casi todas las enfermedades estafilocócicas humanas son causadas por *Staphylococcus aureus*, un anaerobio facultativo que produce grumos de células al crecer. Existe sobre la piel y en los orificios nasales de personas sanas y de animales domésticos. Aproximadamente el 50% de estas cepas producen una enterotoxina termoestable que si se ingiere, produce una intoxicación alimentaria. *S. aureus* puede causar además una gran variedad de infecciones descritas como piógenas (formadoras de pus). Entre las enfermedades causadas por estafilococos se encuentran las infecciones de heridas, neumonía, síndrome del shock tóxico entre otras (14).

##### 1. Neumonía

La neumonía es un proceso inflamatorio agudo del pulmón provocado por agentes infecciosos. Puede afectar a todo un lóbulo (neumonía lobar), a un segmento del mismo (neumonía segmentaria o lobulillar), a los alveolos contiguos a un bronquio (bronconeumonía) o al espacio entre los distintos tejidos (15).

Puede estar provocada por distintos agentes infecciosos. La causa más frecuente son las bacterias, destacando *Streptococcus pneumoniae*, que produce dos tercios de las neumonías bacterianas; pueden ser también causadas por *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae* y *Legionella pneumophila*, entre otras (15).

## 2. Osteomielitis

Es una infección que afecta tanto la parte medular como la cortical del hueso, caracterizándose por la producción de pus. Generalmente es de origen bacteriano, siendo *Staphylococcus aureus* el agente causal más frecuente. *Staphylococcus epidermidis* adquiere también mucha importancia en la infección de biomateriales o implantes metálicos. La osteomielitis puede desarrollarse a partir de un forúnculo o de cualquier otra infección estafilocócica de la piel o tejidos blandos, infecciones articulares, fracturas expuestas, prótesis u otros procedimientos quirúrgicos contaminados, o de una infección del aparato urinario (16).

## 3. Síndrome de shock tóxico

El síndrome del shock tóxico describe un conjunto de síntomas que comprometen diversos sistemas del cuerpo. Las bacterias comúnmente asociadas a esta patología son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. El síndrome del shock tóxico por infección con *Staphylococcus* se identificó a finales de 1970 (17). La forma en que se trasmite a partir de *Staphylococcus aureus* puede ser debido a que forma parte de las bacterias normales del cuerpo, el 90 por ciento de los individuos desarrollan anticuerpos para prevenir la infección. El *S. aureus* puede transmitirse por contacto directo con personas infectadas. Los individuos que desarrollan esta enfermedad, usualmente no han desarrollado anticuerpos contra el *S. aureus*. Por lo tanto, generalmente no se considera una infección contagiosa. Las infecciones por *S. aureus* también pueden suceder debido a otra infección, como la neumonía, la sinusitis, la osteomielitis o las heridas de la piel, como una quemadura o una herida quirúrgica (17).

## 4. Otitis externa

Así se denomina la infección del conducto auditivo externo. Casi una tercera parte de las otitis infecciosas son causadas por *Pseudomonas aeruginosa*; con menor frecuencia los agentes responsables son el hongo *Aspergillus niger* y, más raramente, otras bacterias como *Staphylococcus aureus*. Normalmente, este trastorno cursa con otalgia (dolor de oído), prurito, pérdida temporal de la audición, supuración y dolor al tragar. Mediante otoscopia se observan signos inflamatorios y exudado en el conducto auditivo externo (16).

## 5. Otitis media

Es una inflamación persistente de la mucosa que recubre el oído medio, que produce una exudación líquida que queda atrapada por el cierre de la trompa de Eustaquio, y por ello se produce dolor y pérdida temporal de la audición. La otitis media se puede clasificar en aguda (duración de los síntomas entre 0-3 semanas), subaguda (de 3-12 semanas) y crónica (más de 12 semanas). La infección crónica del oído puede ser más destructiva que la infección aguda, dado que sus efectos son prolongados y repetitivos. Las bacterias que se detectan con más frecuencia en la otitis media aguda, son *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y con menor frecuencia *Brananella catarralis*, *Streptococcus del grupo A* y *Staphylococcus aureus*. En la forma aguda de la enfermedad existe otalgia, fiebre e irritabilidad. Con menos frecuencia se puede presentar otorrea (supuración), vértigo y más raramente parálisis facial. En la otitis media crónica con efusión, la pérdida de audición puede ser el único síntoma (18).

### C. Antibióticos

Los antibióticos son sustancias medicinales seguras que tienen el poder para destruir o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos como bacterias, virus, hongos o protozoos en el cuerpo. Constituyen una clase especial de agentes quimioterapéuticos, que se distinguen de los análogos de factores de crecimiento porque son productos naturales (productos de actividad microbiana), constituyendo una de las más importantes clases de sustancias elaboradas en los procesos microbianos a gran escala (19).

Algunos antibióticos se obtienen de organismos vivos como bacterias, hongos y mohos; otros son total o parcialmente sintéticos es decir, producidos artificialmente. La penicilina es quizás el mejor antibiótico conocido, tanto las naturales (penicilina G y V), así como las semisintéticas las cuales son resistentes a las penicilinasas (cloxacilina, dicloxacilina, metilina, nafcilina y oxacilina); su descubrimiento y desarrollo ha permitido a la profesión médica tratar efectivamente muchas enfermedades infecciosas (20).



## 1. Acción de los antibióticos

Se cree que los antibióticos entran en contacto con la superficie de las células bacterianas ocasionando un cambio en su capacidad de reproducción. Para comprobar la acción de un antibiótico es necesario mostrar cuánta exposición a la droga es necesaria ya sea para inhibir la reproducción (acción bacteriostática), o para matar a las bacterias (acción bactericida). La importancia radica en que cuando se toman pequeñas cantidades de un antibiótico, las bacterias frecuentemente pueden desarrollar métodos para protegerse a si mismas contra éste, ocasionando que la próxima vez que sea usado contra estas bacterias, no sea efectivo. Debe tenerse presente que existen casos en los que la terapéutica indica tomar una única dosis considerablemente alta de un antibiótico, pero a pesar que le tome poco tiempo matar a las bacterias que ocasionan la enfermedad, tal dosis comúnmente haría que la persona sufra de la enfermedad ocasionada por la droga; por lo tanto, los antibióticos se deben de proporcionar en una serie de cantidades prudentes recomendadas por el médico, asegurándose que las bacterias sean eliminadas o reducidas a un número suficiente como para que el cuerpo las pueda repeler (20).

### 1.1 Tipos de antibióticos

Existen varios tipos de antibióticos los cuales se agrupan en familias, se diferencian entre si principalmente por el lugar en donde ocasionan el daño a la bacteria (ver tabla No. 1), inhibiéndola y a la vez asegurándose de que esta sea eliminada (20).

Tabla No. 1

Clasificación de los Antibióticos por Mecanismo de acción

Sitio de acción	Antibióticos
Síntesis de pared celular	Penicilina, Cefalosporinas y Glicopéptidos
Síntesis de proteínas	Macrólidos, Cloranfenicol, Tetraciclinas, Lincosamidas y Aminoglucósidos
Síntesis de ácidos nucleicos	Quinolonas y Sulfamidas
Membrana bacteriana	Polipéptidos

Tomado de: Carsolio MR. Guía Profesional de Medicamentos. 2 ed. México: Manual Modemo, 1984.



### **a. Penicilinas**

Antibiótico aislado del hongo que pertenece al grupo del *Penicillium chrysogenum* y es particularmente activo sobre el estafilococo, estreptococo y neumococo, así como sobre la mayor parte de los microorganismos Gram- positivo, presentando escasa acción sobre los Gram-negativo. A la penicilina producida comercialmente se la llama penicilina G (bencil penicilina), aunque el mismo hongo produce varios tipos más (21).

Está constituida químicamente por un núcleo básico, ácido 6-aminopenicilánico, común a los diferentes tipos con un grupo prostético variable de acción antibacteriana y un grupo opuesto que otorga solubilidad. Se encuentran numerosos integrantes de la familia penicilínica según el modo de obtención: naturales, biosintéticas, semisintéticas con diferentes subgrupos o bien destacando cualidades especiales de la acción antibacteriana (9).

En cuanto a su forma de actuar se cree que tienen acción bactericida contra los microorganismos porque inhiben la síntesis de la pared bacteriana durante su multiplicación activa; inhiben al dipeptidoglucano, sustancia que es necesaria para que la pared sea rígida. Las bacterias resisten la penicilina mediante la producción de penicilinasas, enzimas que convierten la penicilina en ácido peniciloico inactivo. Las penicilinas resistentes a la penicilinasas (cloxacilina, dicloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina) resisten estas enzimas, y resultan sumamente útiles en el tratamiento de las infecciones producidas por *S. aureus* (22).

La clasificación de las penicilinas se describen en los siguientes grupos:

Penicilina G (estándar)

Meticilina/Nafcilina-Isoxazolil penicilina (antiestafilocócica)

Ampicilina-Carbenicilina (espectro amplio)

Acilureido-penicilinas

Amidino-penicilinas

Temocilina

### **a.a. Penicilina G (Estándar)**

Es la primera y más comúnmente usada, también llamada bencilpenicilina, con su variante sódica o potásica cuyo expendio se realiza por unidades o gramos (9).

#### **i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis**

El modo de acción contra las bacterias sensibles se ejerce por interferencia de la biosíntesis de los mucopéptidos que van a constituir la pared bacteriana; estos mucopéptidos están ubicados en sectores determinados del espectro bacteriano, por lo que se dice que la penicilina es de espectro limitado. Actúa principalmente contra cocos y bacilos Gram-positivo. La pared de los bacilos Gram-negativo es muy compleja, con escasa cantidad de mucopéptidos por lo que son resistentes (9).

La administración por vía intramuscular cada 4 horas se emplea en enfermedades de curso agudo y a veces violento, como la neumonía, la erisipela y la escarlatina. El ritmo de aplicación está impuesto así porque la eliminación es casi completa en el término de 4 horas. La aplicación por vía intravenosa, se utiliza en procesos sépticos graves (9).

#### **ii. Absorción, difusión, excreción**

La introducción de penicilina en el organismo permite, después de un acoplamiento parcial con las proteínas del suero, una difusión adecuada en los distintos parénquimas si la dosis es suficiente. Es posible el pasaje a líquido pleural, al pericardio y a sinoviales. La eliminación por bilis es muy alta, a veces, superior a la concentración sanguínea, pero se reduce notablemente si hay lesión del parénquima hepático. La eliminación renal, tubular casi toda representa del 40 al 80%, pero la filtración aminora en enfermos renales crónicos. La rápida eliminación de la penicilina común, que se completa en 4 horas después de inyectada, impone la repetición de dosis en el mismo horario (9).

### **b. Penicilinas resistentes a penicilinasa**

#### **b.a. Meticilina**

Es una penicilina semisintética eficaz para el tratamiento de sepsis por estafilococos productores de penicilinasa (9).

#### i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis

El modo de acción es de tipo bactericida, la eficacia contra el estafilococo resistente reserva este antibiótico para todas las infecciones causadas por este microorganismo, el espectro bacteriano de esta droga se reduce, por autolimitación médica y química, al tratamiento de afecciones por el estafilococo coagulasa positivo resistente a la penicilina o a la ampicilina. Se aplica en dosis diarias de 4 a 6 g. con una dosis máxima de 12 g. al día. La prescripción se normaliza con 1 g. por vía intramuscular cada 4-6 horas; en pediatría, 25 mg. por kg. cada 6 horas (9).

#### ii. Absorción, difusión, excreción

No se absorbe por vía digestiva y debido a este motivo se emplea por vía intramuscular o intravenosa. Alcanza rápidos niveles hemáticos y se difunde bien por los tejidos orgánicos, la mayor parte se expulsa por la orina en forma activa; el agregado de probenecid retarda la eliminación y prolonga el tiempo útil de la droga, hecho importante en la atención de los enfermos (9).

#### b.b. Oxacilina

Fue la primera droga comercializada para el tratamiento de afecciones cutáneas u otorrinolaringológicas causadas por estafilococos; es eliminada a través del riñón. La dosis habitual es de 500 mg cada 4 a 6 horas ; tiene un mecanismo de acción semejante a la meticilina y por este motivo para evaluar la presencia de *Staphylococcus meticilino* resistentes (MRS) se hace uso de este antibiótico, debido a que la meticilina es poco estable y se degrada en poco tiempo en el laboratorio (9).

#### c. Macrólidos

Abarca varios antibióticos que se caracterizan en su estructura por un anillo lactónico, macrocídico, de donde deriva el nombre (9). Son antibióticos naturales, semisintéticos y sintéticos que ocupan un lugar destacado en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias intracelulares (23).

#### c.a. Eritromicina

Se aisló del hongo *Streptomycetes erythreus*, las formas comerciales varían químicamente en la presentación por vía oral e intravenosa (9).



#### **i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis**

La actividad antibacteriana es esencialmente bacteriostática, porque inhibe la proteinosíntesis y bloquea la transpeptidación, actúa a nivel de la subunidad 50 ribosomal, pero esta acción puede ser bactericida según el microorganismo o el sitio de la infección y la concentración de la droga; el espectro es amplio, especialmente dirigido contra cocos y bacilos Gram-positivo: neumococos, estreptococos, estafilococos, *Listeria monocytogenes*. La resistencia bacteriana adquirida por el estafilococo se hace con relativa rapidez cuando su empleo es masivo en una determinada región. Puede ser administrada por vías diferentes con variantes adaptadas según la edad, la dosis habitual del adulto es de 1.5 g., repartidos en 3 dosis de 500 mg. dadas por vía oral con intervalos de 8 horas (9).

#### **ii. Absorción, difusión, excreción**

La absorción por vía oral es buena, teniendo variaciones según la fórmula química y la presentación farmacéutica; la penetración en los tejidos es satisfactoria pero no pasa la barrera hematoencefálica. La excreción del antibiótico se realiza por vía biliar, con una concentración alta cuando esta vía es permeable. La vida media de la entromicina es de 1.2-2.6 horas, pero se prolonga en los paciente anúricos (9).

#### **d. Aminoglucósidos**

Grupo de antibióticos de estructura similar que inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, el espectro de actividad, está determinado por la existencia de enzimas bacterianas inactivantes de aminoglucósidos. La resistencia a los aminoglucósidos puede ser de tipo cromosómico o plasmídico, sin embargo es más frecuente la resistencia adquirida por plásmidos, los cuales son de utilidad a las bacterias para segregar enzimas capaces de modificar el antibiótico (9,24).

Los aminoglucósidos pueden ser inactivados por enzimas que acetilan los grupos amino o por la fosforilación de grupos hidroxilo; todo aminoglucósido puede ser alterado en varios sitios con distintas enzimas (9,24).

La gentamicina y tobramicina poseen en común cuatro puntos diferentes de inactivación; mientras que la amicacina tiene un grupo amino modificado, con lo cual se bloquean tres lugares de agresión enzimática. Este antibiótico puede ser atacado en un solo punto (9).



#### d.a. Gentamicina

Antibiótico aislado en 1961, como un complejo de sustancias extraídas del cultivo de *Micromonospora purpurea*. Se caracteriza por su buena estabilidad a distintas temperaturas (9).

##### i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis

Cuando se inyecta en cantidades suficientes, la acción de gentamicina es de tipo bactericida, porque altera la síntesis proteica de los microorganismos en fase de proliferación logarítmica. El espectro bacteriano es amplio porque cubre bacterias Gram-negativo y Gram-positivo. Para que una bacteria se considere sensible debe ser inhibida con 1 mcg/ml de gentamicina y será moderadamente sensible cuando necesita 1-4 mcg/ml. La resistencia de las bacterias a gentamicina va en progresivo aumento en relación directa con el empleo intenso y sostenido que se efectúa en salas de terapia intensiva, el mecanismo de esta resistencia es de tipo transferible (9).

La vía intramuscular es la de elección. La dosis habitual es de 3 mg por kg de peso y por día, repartida en 3 dosis con intervalos de 8 horas. En los niños, la dosis recomendada es de 3-5 mg por kg de peso y por día y en los recién nacidos 6-7 mg por kg de peso por día (9).

##### ii. Absorción, difusión, excreción

La aplicación intramuscular de 80 mg produce niveles séricos de 8 mcg/ml en el término de 1 hora, pero desciende a 2 mcg/ml a las 3 horas. El nivel sérico está influido por el hematocrito, ya que habría absorción por parte de los glóbulos rojos. Cuando mayor es el hematocrito, mayor la cantidad necesaria para alcanzar el nivel deseado. La eliminación se hace principalmente por vía urinaria, con filtrado glomerular conservando su actividad antibacteriana. En 24 horas, la eliminación es el 80% pero disminuye en relación directa con el grado de insuficiencia renal (9).

#### e. Glicopéptidos

Poseen una compleja estructura química y actúan inhibiendo la síntesis de pared celular en un sitio diferente al de los  $\beta$ -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  $\beta$ -lactámicos como MRSA (24).

#### **e.a. Vancomicina**

**Antibiótico obtenido del *Streptomyces orientalis*, estructuralmente es un glicopeptídico, emparentado con teicoplanina y daptomicina (9).**

##### **i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis**

**Es un antibiótico bactericida porque inhibe la biosíntesis de los fosfolípidos en la pared celular, agregándose inhibición de la síntesis del ARN y alteraciones en la membrana citoplasmática. El espectro bacteriano comprende numerosos microorganismos Gram-positivo como *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, los cuales son sensibles con concentraciones de 5 mcg/ml (9).**

**La aplicación intravenosa se efectúa lentamente, con dilución en 20 ml de suero fisiológico; la dosis habitual es de 1 g cada 8-12 horas en el adulto o 500 mg cada 6 horas, mientras haya función renal normal. En pediatría se aplican 15-40 mg/kg/día según edad (9).**

##### **ii. Absorción, difusión, excreción**

**La administración oral es poco absorbible y permite una concentración muy alta en las heces, de gran valor para el tratamiento de colitis graves, por estafilococo o *Clostridium*. La eliminación se hace por filtrado glomerular. La vida media es de 6-8 horas con función renal normal (9).**

#### **f. Quinolonas**

**Este grupo de compuestos incluye un número de agentes antimicrobianos íntimamente relacionados, que funcionan primariamente inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos afectando la actividad de la ADN-girasa de muchas bacterias Gram positivo y Gram negativo (24).**

##### **i. Modo de acción, espectro bacteriano y dosis**

**Las quinolonas inhiben la actividad de una enzima bacteriana esencial para la replicación del ADN, por lo tanto interfieren su síntesis. La inhibición de esta enzima comporta la muerte de la bacteria, por lo tanto el mecanismo de acción de las quinolonas es de tipo bactericida. El espectro bacteriano es amplio, los anaerobios son poco o nada sensibles (9).**

La vía oral es preferente por su facilidad para administrarla cada 12 horas. La dosis por cada toma es distinta según el fármaco: 200-400 para ofloxacilina, 200-500 para ciprofloxacina. La vía intravenosa se aplica con ciprofloxacina y pefloxacina, en enfermos con infecciones severas, con una cantidad de 200 mg, que puede repetirse a las 8-12 horas (9).

#### ii. Absorción, difusión, excreción

La administración oral permite una buena absorción, alcanzándose concentraciones séricas útiles y variables según cada droga suministrada. La vida media varía entre cada quinolona, la excreción se realiza principalmente por vía urinaria donde alcanza, inmodificada, elevadas concentraciones muy por encima del nivel sérico. La difusión es de gran interés, ya que penetra en los tejidos, en las células, en los humores orgánicos y se ha demostrado su presencia en saliva, secreciones bronquiales y bilis (9).

#### g. Lincosaminas

La clindamicina junto con la lincomicina pertenecen a este grupo, están constituidos por un ácido aminado y un azúcar unidos por una amida. El sitio de unión en el ribosoma es el mismo que para los macrólidos y el cloranfenicol, inhibiendo sus acciones por competencia; por lo tanto, estos agentes son antagónicos y no deben ser usados concomitantemente (25).

La clindamicina es activa frente a *Staphylococcus aureus* meticilino sensible y *S. epidermidis* debiéndose comprobar esto mediante el estudio de susceptibilidad, los *Staphylococcus* resistentes a la meticilina suelen serlo también a la clindamicina (25).

#### D. Resistencia Bacteriana

A partir de los años 40, los antimicrobianos redujeron drásticamente la morbilidad y mortalidad de las enfermedades infecciosas, pero las bacterias y otros microorganismos patógenos poseen una notable capacidad para desarrollar resistencia, ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia de otros microorganismos. La presión selectiva ejercida por los antimicrobianos favorece el crecimiento de microorganismos resistentes, y la amplia utilización de estos fármacos ha conducido a una situación que amenaza destruir los logros conseguidos en la última mitad del siglo pasado (26).



La resistencia bacteriana es muy importante en el estudio de los antibióticos porque su comprobación implica el fracaso de la terapéutica. Las bacterias naturalmente resistentes frente a determinadas drogas son conocidas desde la producción misma del fármaco, pero es motivo de interpretación distinta la resistencia adquirida en el curso de los años o aún en poco tiempo, por ciertas bacterias (9).

El estudio de la resistencia bacteriana constituye uno de los mayores retos de la humanidad y particularmente de la ciencia médica, ya que el nivel de resistencia alcanzado por muchas bacterias obliga a tomar acciones que tienden a limitar su diseminación y reducir el impacto de morbi-mortalidad (27).

El uso racional de medicamentos implica obtener mejor efecto con el menor número posible de fármacos, durante el periodo más corto posible y a un costo razonable; el tratamiento ineficaz es frecuente y causa a veces graves efectos secundarios e incluso provoca ingresos a las distintas áreas de los hospitales (28).

## 1. Tipos de resistencia

### a. Natural

Es la que presentan las bacterias de una misma especie o cepa frente a determinado antibiótico sin que hayan tenido contacto previo con el fármaco. El conocimiento de la resistencia natural o primaria forma parte del espectro antibacteriano de cada antibiótico, este concepto debe ser privativo para el médico porque debe tener un entendimiento claro y preciso de los distintos grupos antibióticos, frente a las principales bacterias causantes de infecciones (9,29).

### b. Adquirida

La resistencia de la bacteria a uno o varios antibióticos puede lograrse en el transcurso del tiempo por dos mecanismos básicos: mutación de las características o adquisición de material genético con ubicación extracromosómica; esta resistencia alcanza parcialmente a pocos o muchos integrantes de una misma especie o cepa por lo tanto es fragmentaria, es decir, no abarca a toda la especie (3,9).

### c. Cruzada

Engloba a los antibióticos con estructura química idéntica. Si el mecanismo de acción de la droga es similar, la bacteria resistente a uno de los integrantes del grupo lo será también a los demás; el conocimiento de este tipo de resistencia evita la prescripción de antibióticos semejantes, en tiempos sucesivos, cuando fracasa la terapéutica (9).



## 2. Bases bioquímicas de la resistencia

El conocimiento de las bases bioquímicas de la resistencia es de gran valor para la industria farmacéutica, porque permite la síntesis de nuevos fármacos con mayor capacidad antibacteriana; su conocimiento explica también las infecciones hospitalarias, el fracaso de la antibioticoterapia en determinados casos o las infecciones recurrentes (9).

Las bacterias crean o logran la resistencia mediante diversos recursos biológicos que explican la rapidez de su adaptación a un ambiente desfavorable (9).

Entre estos recursos se destacan como más importantes:

- disminución de la permeabilidad bacteriana para impedir el acceso del fármaco,
- reducción de la afinidad a la enzima blanco de la droga,
- modificación de la enzima blanco del antibiótico,
- segregación de enzimas inactivadoras del quimioterápico (9).

El empleo masivo de los antimicrobianos ha contribuido de forma importante a la aparición, el incremento y la diseminación de la resistencia microbiana, es un problema global que disminuye las opciones terapéuticas y al aumentar las posibilidades de fracaso no solo aumenta la mortalidad, sino que también aumentan los costos de los tratamientos ya que muchos microorganismos son resistentes a múltiples antimicrobianos (28).

## 3. Tipos de mecanismos de resistencia

### a. $\beta$ -lactamasas

Los  $\beta$ -lactámicos han constituido el grupo antibiótico de mayor relevancia clínica. Existen tres mecanismos importantes de resistencia a este grupo de medicamentos: reducción de la afinidad de las proteínas de unión a las penicilinas (Gram-positivo y negativo), alteración en la permeabilidad de la membrana externa (Gram-negativo) y producción de  $\beta$ -lactamasas que inactivan el anillo  $\beta$ -lactámico mediante hidrólisis. Las  $\beta$ -lactamasas pueden estar codificadas en genes, cromosomas o plásmidos; en los microorganismos Gram-negativo se encuentran en el espacio periplásmico, entre la pared celular y la membrana externa; los Gram-positivo las excretan por carecer de membrana externa. Existen numerosas  $\beta$ -lactamasas que varían en su habilidad para inactivar un determinado  $\beta$ -lactámico o en su susceptibilidad a inhibidores como clavulanato, sulbactam y tazobactam (30).

La aparición reciente de microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE`S), capaces de inactivar potentes cefalosporinas, ha generado gran preocupación debido a las implicaciones clínicas y terapéuticas que tienen: primero, son transmitidas por plásmidos y pueden diseminarse a muchos microorganismos; segundo, la diseminación de la resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido limita aún más el uso de las  $\beta$ -lactamasas y estimula el uso de antibióticos más costosos y de mayor espectro (30)

b. PBP's (Proteínas ligadoras de penicilina)

Es el segundo mecanismo más importante, debido a que existe una modificación en los receptores para la fijación del antibiótico a las estructuras críticas por la alteración de las proteínas fijadoras normales presentes en las membranas celulares de las bacterias Gram-positivo, y su transformación en proteínas con reducida afinidad por los antibióticos. El género *Staphylococcus* ha desarrollado mecanismos más complejos de resistencia (31).

El mecanismo de resistencia a metilina de *Staphylococcus aureus* se asocia en general a la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP's) que es (PBP 2a ó PBP2') de 78 kDa con baja afinidad por la metilina y el resto de los  $\beta$ -lactámicos. El determinante genético de esta proteína es de naturaleza cromosómica (gen *mec*). Este gen contiene loci distintos, el *mecA*, que codificará la PBP 2a y el *mecR* o gen regulador. Las cepas MRSA con resistencia verdadera o intrínseca a metilina poseerían los marcadores gen *mecA* y PBP 2a (31)

c. Impermeabilidad

Tercera clase de mecanismo, es común en todos los antibióticos; involucra el efecto de permeabilidad de la membrana sobre la resistencia a diversas clases de antibióticos en las especies Gram-negativo. Las bacterias restringen la entrada de los antibióticos mediante modificaciones en las proteínas de transporte, como las porinas. Factores como la carga de la molécula y la hidrofobia del compuesto, juegan un papel importante. Las moléculas cargadas negativamente se desplazan a través de la membrana con mayor lentitud que las moléculas con carga positiva. Se presume que las cargas negativas hacen que los antibióticos se unan a medida que atraviesan el canal de porina cargado negativamente. Además pueden expulsar el antibiótico fuera de la célula, con tanta rapidez que este puede acumularse en el citoplasma (30).



#### d. Bomba de E-flujo

Cuarta clase de mecanismo, al igual que el anterior es común en todos los antibióticos. Consiste en la eliminación activa de los antibióticos de la célula, de tal forma que las concentraciones intracelulares nunca alcanzan un nivel suficiente como para tener un efecto antimicrobiano eficaz. Este mecanismo de flujo al exterior dependiente de energía, es una defensa primordial de las bacterias contra las tetraciclinas y macrólidos, dos grupos de antibióticos que interfieren con la síntesis proteica a nivel ribosómico. En forma similar la disminución del antibiótico es un mecanismo de resistencia de los *Staphylococcus* contra las quinolonas, que interfieren con el ADN girasa. El transportador puede eliminar con eficacia varios tipos de antibióticos (30).

#### 4. Mecanismos de resistencia

##### a. Detección de *Staphylococcus* resistentes

##### i. *Staphylococcus* productores de $\beta$ -lactamasa

La resistencia a los  $\beta$ -lactámicos en el género *Staphylococcus* obedece a dos mecanismos:

- Mediada por  $\beta$ -lactamasa

Afecta a los siguientes antimicrobianos: penicilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, azlocilina, mezlocilina, piperacilina y ticarcilina (32).

- Mediada por PBP 2a o intrínseca

Codificada por el gen *mecA* del cromosoma. Es el mecanismo que afecta a: meticilina, oxacilina, cloxacilina, flucloxacilina, nafcilina y todos los  $\beta$ -lactámicos, incluyendo cefalosporinas de todas las generaciones y combinaciones con inhibidores de  $\beta$ -lactámicos. Estas cepas son además resistentes a otros antimicrobianos, la expresión de esta resistencia puede ser heterogénea (todas las bacterias tienen el gen, pero sólo algunos lo expresan), u homogénea (todas las bacterias tienen el gen y lo expresan (32) .



## **b. Detección de *S. aureus* con susceptibilidad *in vitro* peculiar**

### **i. Cercano al punto de corte**

Mediada por el exceso de  $\beta$ -lactamasas, se caracteriza por una CIM (menor concentración de antibióticos en los microorganismos/ml que impide el crecimiento *in vitro* de las bacterias) a oxacilina de 2 mg/ml, resistencia que no es cruzada con otros  $\beta$ -lactámicos. Son susceptibles a inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (32).

### **ii. Tolerancia**

Se define por una relación entre la Concentración inhibitoria mínima (CIM) y la Concentración bactericida mínima (CBM), la cual debe ser mayor o igual a 1:4 (32).

## **c. *Staphylococcus* Meticilino/Oxacilino resistentes**

Históricamente se ha referido a "meticilino resistencia" como MRSA (para *S. aureus* meticilino resistente) o MRS (para estafilococo meticilino resistente (24).

En este caso se trata de una resistencia de tipo cromosómica con producción de una proteína de unión a penicilina anómala. Este tipo de microorganismo al parecer ha respondido bien a terapias basadas en clindamicina e incluso TMP-SMZ en comunidades con una alta prevalencia de *Staphylococcus* resistentes a la meticilina para manejo de infecciones a nivel de tejidos blandos (33).

Aunque el término resistente a la meticilina incluye resistencia a derivados  $\beta$ -lactámicos las cepas MRSA presentan resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos, la mayoría de los MRS presentan resistencia a través de diversos mecanismos y son usualmente resistentes a múltiples antibióticos incluyendo otros  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, clindamicina, cloranfenicol, tetraciclina, e incluso quinolonas describiéndose cada vez con mayor frecuencia brotes MRSA susceptibles sólo a los glucopéptidos (34).

La observación de múltiple resistencia podría ser indicio de meticilino resistencia, pero si el método de difusión por discos resultara dudoso con un posible *Staphylococcus* spp. meticilino resistente deberán realizarse pruebas confirmatorias adicionales, tales como el test de tamizaje en agar salado (24).

La mayor incidencia de este microorganismo ha aumentado constantemente desde los años 80 no solamente en hospitales clínicos, sino también en centros de atención comunitaria encontrándose generalmente en drogadictos que utilizan drogas intravenosas, y pacientes con enfermedades graves (32).

Para identificar cepas metilino resistentes es recomendable efectuar una prueba de difusión en agar Muller Hinton utilizando discos de oxacilina de 1 ug, el cuál es el más adecuado para detectar la resistencia en un alto porcentaje y es el más resistente y estable a la degradación del almacenamiento; se deben examinar los halos de inhibición buscando colonias aisladas dentro del halo e interpretar según los estándares del Comité Nacional de Estándares para Laboratorios Clínicos de Estados Unidos (NCCLS) (32,35).

Los *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina (MRSA) representan un importante reto para la salud pública en muchas instituciones sanitarias de todo el mundo. Son causa frecuente de brotes de transmisión entre personas y, en muchas regiones, han llegado a ser endémicos, aumentando la morbilidad, la mortalidad y los costos de atención sanitaria. El interés actual del estudio de este patógeno deriva bien de su alta frecuencia o por representar en el caso de cepas resistentes a la metilina una de las principales causas de brotes de infecciones nosocomiales (34).

#### d. *Staphylococcus* MLS resistentes

La resistencia denominada MLS (*Staphylococcus* resistentes a macrólidos, lincosaminas y estreptograminas) se debe a alteraciones en el ácido ribonucleico (ARN); afectando a todos los antibióticos que pertenecen a las familias mencionadas anteriormente; puede ser constitutiva o inducible, y se expresa al exponer a las bacterias a concentraciones subinhibitorias de la droga (23).

La resistencia bacteriana a macrólidos puede ser el resultado de una metilación ribosómica, puede ser debida a impermeabilidad de la membrana externa o consecuencia de sistemas de expulsión activa. La resistencia que resulta de la metilación de una adenina del ARN ribosómico 23S, produce una disminución de la afinidad del antibiótico por el ribosoma. La metilasa de ARN ribosómico que cataliza dicha reacción es de origen plasmídico y es inducida por la presencia de trazas de eritromicina. De esta forma el ribosoma se hace resistente a los macrólidos, a la clindamicina y las estreptograminas (resistencia cruzada MLS: macrólidos, lincosamidas y estreptograminas) (36).

La resistencia en *Staphylococcus aureus* es el resultado de la adquisición de alguno de los determinantes de resistencia: con genes de origen estafilocócico, como *msr (A)*, gen de flujo externo (37).



## **E. Epidemiología de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. en Guatemala**

En un estudio realizado en el 2002 en el Hospital General San Juan de Dios en donde se evaluó la resistencia de *Staphylococcus aureus* aislados intrahospitalariamente, tanto en los *S. aureus* meticilino resistentes (MRSA) como en los meticilino sensibles (MSSA). El total de la población estudiada fueron 200 pacientes (100 por ciento), de los cuales 185 (93 por ciento) estaban hospitalizados, de estos 136 (74 por ciento) presentaron cultivo positivo para MRSA y 49 (26 por ciento) fueron MSSA. Se encontró que existe un mayor porcentaje de resistencia a los antibióticos cuando son MRSA que cuando son MSSA. Este comportamiento se generaliza por diferencias significativas (38).

Dentro de los antibióticos que se evaluaron y mostraron un gran porcentaje de resistencia en los MRSA estuvieron: clindamicina (90 por ciento), eritromicina (87 por ciento), gentamicina (93 por ciento), ciprofloxacina (96 por ciento), levofloxacina (97 por ciento) y rifampicina (65 por ciento), presentando porcentajes de susceptibilidad muy pequeños; siendo los que presentaron un menor porcentaje de resistencia comparado con los antibióticos mencionados anteriormente la tetraciclina (42 por ciento) y SXT (25 por ciento) ya que en estos dos últimos la mayoría de aislamientos fueron susceptibles. En los aislamientos analizados de MSSA se observó que fue considerablemente menor el porcentaje de resistencia a los antibióticos ya que en la mayoría de antibióticos se presentaron porcentajes de susceptibilidad altos. La única característica en común fue que todos eran vancomicina sensibles (38).

En otro estudio realizado, contenido en el Informe anual regional de los países participantes en la red de Monitoreo/Vigilancia de la resistencia a los antibióticos que se llevó a cabo en el año 2001, en Guatemala la red estuvo constituida por seis instituciones: Hospital Roosevelt, Hospital San Juan de Dios, Hospital del Seguro Social, Hospital del Quiché, Hospital de Cobán y Hospital de Zacapa. Para *S. aureus* se obtuvieron 1690 aislamientos (100 por ciento), de los cuales la mayoría presentó resistencia a los antibióticos evaluados obteniéndose el mayor porcentaje de resistencia en el caso de ampicilina (97 por ciento), oxacilina (56 por ciento) y ciprofloxacina (53 por ciento), encontrándose también resistencia pero en un menor porcentaje para SXT (10 por ciento) y rifampicina (2 por ciento) del total de los aislamientos analizados. No se reportó resistencia a la vancomicina (39).



## **F. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana**

Las pruebas de sensibilidad están indicadas para cualquier microorganismo, contribuyendo así a orientar el tratamiento quimioterápico de los procesos infecciosos, si su sensibilidad no puede ser predicha a partir del conocimiento de la identidad del microorganismo; frecuentemente están indicadas en caso de que la especie en estudio sea capaz de mostrar resistencia a los antibióticos usados comúnmente (23).

La selección de los agentes antimicrobianos apropiados para la prueba de difusión, es una decisión que cada laboratorio clínico debe tomar de común acuerdo con el cuerpo médico, el comité de farmacia y el comité de enfermedades infecciosas. Las cualidades que se han considerado en la designación de un antimicrobiano a un grupo específico incluyen: eficacia clínica, prevalencia de resistencia, costo, indicaciones de la Agencia estadounidense para alimentos y fármacos (FDA), recomendaciones, consenso para drogas de primera elección y alternativos (24).

### **1. Procedimientos manuales**

#### **a. Prueba de difusión de discos en agar**

Método generalmente usado y aprobado por el Comité Nacional de Estándares para Laboratorios Clínicos de Estados Unidos (NCCLS), para efectuar las pruebas de sensibilidad, después de inocularlo e incubarlo se miden los halos de inhibición y se comparan con las tablas entregadas por la NCCLS, y de esta manera se determina si los microorganismos son susceptibles o resistentes a los diferentes agentes antimicrobianos (35).

#### **b. Test de Microdilución CIM en caldo**

El test de microdilución de concentración inhibitoria mínima en caldo se utiliza para medir semicuantitativamente la cantidad *in vitro* de un agente antimicrobiano contra un microorganismo aislado. El procedimiento de dilución es similar en principio al método en macrotubo, excepto que la sensibilidad del microorganismo a los antibióticos se determina en una serie de microcubetas moldeadas en una placa plástica (35).

La CIM se determina observando la concentración menor de antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible del microorganismo, los valores de la CIM se interpretan como susceptibles, intermedios o resistentes según las tablas proporcionadas por la NCCLS. Las ventajas es que utiliza pequeños volúmenes de reactivos y que pueden probarse grandes cantidades de bacterias de un modo simple y económico contra un panel de antibióticos (35).

### c. Prueba de Sensibilidad por Macrodilución en caldo

En esta prueba se realizan diluciones del agente antimicrobiana en caldo o en agar, después de lo cual se agrega una suspensión bacteriana estandarizada. Se utiliza el caldo Mueller-Hinton suplementado con cationes; las cantidades de antibiótico son diluidas en forma seriada desde 100 µg/ml hasta 0.4 µg/ml. El tubo 10 no posee antibiótico y sirve como control de crecimiento; la turbidez indica que el crecimiento bacteriana no ha sido inhibido por la concentración de antibiótico contenida en el medio. La CIM es interpretada como la concentración de antibióticos en el primer tubo de la serie, que inhibe el crecimiento visible (35).

### d. Prueba de Sensibilidad por Dilución en agar

Se utiliza sólo para probar concentraciones seleccionadas de antibióticos. Se siembra una suspensión estandarizada de bacterias sobre la superficie de una serie de placas de agar, cada una de las cuales contiene una concentración diferente de antibiótico, que abarca los límites terapéuticos de la droga. La placa para la prueba de sensibilidad por dilución en agar se inocula colocando la placa sembradora con sus múltiples suspensiones en forma directa debajo de la cabeza inoculante; después de que todas las placas han sido inoculadas, se incuban a 35°C durante 18 horas (35).

## 2. Procedimientos automatizados

### a. Vitek

Sistema semiautomático para la realización de pruebas de sensibilidad microbiana. Utiliza un análisis computarizado del crecimiento en tarjetas plásticas para calcular la CIM. En algunos casos el cálculo de este depende de la identificación bacteriana. La precisión adicional proporcionada por la correlación, manejada por la computadora, del patrón de crecimiento y la identificación está contrabalanceada por la falta de certeza acerca de los resultados de sensibilidad, si la identificación aún no se conoce o no puede ser proporcionada por el sistema con el certeza adecuada (35).

### b. MicroScan

Se basa en la metodología CIM tradicional. La línea recorre la gama de las placas ya sean congeladas o liofilizadas, que son interpretadas con instrumento semiautomático (el Walkaway). Los reactivos bioquímicos para la identificación bacteriana están incorporados en las mismas placas de microtitulación. El Walkaway incorpora un sistema de detección fluorescente que puede proporcionar en el mismo día la identificación y la prueba de sensibilidad de algunos microorganismos (35).

**c. Método automatizado mediante microdilución**

Al igual que en el estudio de la CIM, existen hoy en día equipos automatizados con los cuales se pueden conseguir las concentraciones necesarias de antimicrobianos y microorganismos.

El empleo de placas de plástico con pocillos en los cuales se depositan pequeños volúmenes (100 o 200  $\mu$ l) de la dilución de la bacteria equivalente al Mc Farland 0.5 puede sustituir aquí a los tubos y placas de agar. Si además las diluciones se realizan de forma automatizada, se ahorra tiempo y se puede realizar el ensayo con muchas más muestras (40).



#### IV. JUSTIFICACIÓN

Debido a que una de las funciones del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social es dictar las políticas de sanidad, además de velar porque se lleven a cabo todas las disposiciones acordadas para mejorar los servicios de atención así como la terapéutica que se proporciona en todos los hospitales nacionales, es necesario que se conozca la magnitud del problema del desarrollo de mecanismos de resistencia bacteriana, dado a que se han reportado datos alarmantes de la existencia de multiresistencia. Esto se debe principalmente al hecho de que no se tiene el suficiente conocimiento de la presencia de estos mecanismos, debido a que cada vez son más complejos. Por este motivo es de gran importancia la detección de bacterias capaces de desarrollar mecanismos múltiples para proporcionar el tratamiento más adecuado.

El hecho de analizar la presencia de estos mecanismos fue para determinar las falsas susceptibilidades y resistencias en los aislamientos involucrados, se utilizó el antibiograma para obtener datos confiables; y poder detectar la presencia de *Staphylococcus* resistentes a la meticilina (MRS) y *Staphylococcus* resistentes a los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS).

Lo que se consiguió es proporcionar resultados verídicos al médico para que pueda tratar las enfermedades infecciosas, manejando la terapéutica con mayor prudencia; y pueda proporcionar el tratamiento más eficaz y seguro para los pacientes.

Aunque no es posible acabar con el problema de la resistencia a los antimicrobianos, sí es posible convertir esta amenaza creciente en un problema manejable. Para esto es necesario mejorar la vigilancia de los problemas de resistencia emergentes, prolongar la vida útil de los antimicrobianos y utilizar otras medidas para prevenir y controlar la resistencia. Además este estudio permitió relacionar la resistencia bacteriana con la proveniencia de los aislamientos colectados y demostrar en que hospitales existe mayor porcentaje de resistencia; incluyendo que tipo de mecanismos han logrado desarrollar, proporcionando un informe al departamento de Epidemiología así como a las autoridades de cada hospital para que tomen las medidas pertinentes.

## V. OBJETIVOS

### 1. OBJETIVO GENERAL

- 1.1 Determinar los mecanismos de resistencia que presentan los *Staphylococcus* spp. del banco de aislamientos del Laboratorio Nacional de Salud.

### 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.1 Describir los patrones de resistencia bacteriana que se observen y relacionarlos con el hospital de donde provienen los aislamientos.
- 2.2 Determinar el porcentaje de MRSA y de resistencia a macrólidos de los *Staphylococcus* spp. del banco de aislamientos del Laboratorio Nacional de Salud.
- 2.3 Informar al Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud Pública, así como a las autoridades de cada hospital de los resultados obtenidos, mediante la entrega de la Tesis avalada por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. Universo**

Todos los aislamientos de *Staphylococcus* spp. del banco del Laboratorio Nacional de Salud captados en el período del 2002 a mayo del 2004.

### **B. Muestra**

Se utilizaron 113 aislamientos de *Staphylococcus* spp. colectados por el Laboratorio Nacional de Salud provenientes de diferentes hospitales de la nación.

### **C. Recursos**

#### **1. Humanos**

Claudia Eugenia Alburez Calvo (Tesisista)  
Licenciado Jorge Matheu (Asesor)

#### **2. Institucionales**

- a. Área de Bacteriología de la Unidad de Diagnóstico Humano del Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- b. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### **3. Físicos**

##### **a. Materiales**

- tubos de vidrio
- hisópos estériles
- asas bacteriológicas



- cajas de petri
- pinzas estériles
- regla graduada en mm.
- guantes
- bata blanca

**b. Reactivos**

- tubos con solución salina
- estándar de Mc Farland 0.5 (Suspensión de sulfato de bario).
- agar sangre de camero
- agar Müller Hinton
- discos para susceptibilidad de los antibióticos: eritromicina, oxacilina, clindamicina, gentamicina, trimetoprim sulfametoxazole, ciprofloxacina y vancomicina.

**c. Equipo**

- incubadora a 37 °C
- mechero bunsen
- estufa
- refrigeradora de 2 – 8 °C
- agitador tipo vortex

**D. Metodología**

Las muestras que se analizaron, correspondían a todos los aislamientos de *Staphylococcus spp.* captados por el Laboratorio Nacional de Salud provenientes de diferentes Hospitales del país; fueron sometidas a pruebas para la determinación de los mecanismos de resistencia haciendo uso de los discos de antibióticos necesarios.

## **E. Procedimiento**

Se resembraron los aislamientos en un agar nutritivo (sangre de camero) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas para obtener crecimiento.

### **1. Preparación del Estándar de Mc Farland 0.5:**

- 1.1 Se agregaron 0.5 ml de  $\text{BaCl}_2$  0.048 M a 99.5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.18 M (1% V/V).
- 1.2 Se verificó la turbidez correcta del estándar usando un espectrofotómetro.
- 1.3 Se distribuyeron de 4- 6 ml dentro de tubos similares a los que se usaron para preparar inóculos.
- 1.4 Se almacenaron a temperatura ambiente protegiéndolos de la luz solar.
- 1.5 Se agitó vigorosamente el estándar antes de su uso para lograr una turbidez homogénea (24).

### **2. Preparación de la suspensión bacteriana:**

- 2.1 Se seleccionaron de 4 a 5 colonias aisladas de igual morfología de la placa de cultivo fresco (18-24 horas de incubación) con un asa en punta y se suspendieron en un tubo con solución salina.
- 2.2 Se ajustaron hasta llegar a una turbidez similar a la del estándar de Mc Farland por comparación visual. Para ello, se observaron los tubos contra un fondo blanco con línea negra como contraste (24).

### **3. Inoculación de las placas:**

- 3.1 Dentro de los 15 minutos después de haber ajustado el inóculo se sembraron las placas de Muller-Hinton con un hisopo estéril.
- 3.2 Se presionó el hisopo contra las paredes del tubo a fin de eliminar el exceso de inóculo.
- 3.3 Se inoculó la superficie seca del Müller Hinton por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. De esta forma se logró que las zonas de inhibición fueran uniformemente circulares y el desarrollo confluyente o casi confluyente.
- 3.4 Se esperaron algunos minutos, pero no más de 15 antes de aplicar los discos para que el exceso de humedad superficial fuera absorbido (24).

#### 4. Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas:

- 4.1 Se colocaron los discos sobre la superficie del agar inoculada, con pinza estéril, aplicando una ligera presión a una distancia o menor a 24 mm desde un centro al otro. Debido a que algunas drogas difunden casi instantáneamente, el disco no se removió una vez que entró en contacto con la superficie del agar.
- 4.2 Dentro de los 15 minutos posteriores a que los discos fueron aplicados, se incubaron las placas invertidas a 37°C por 24 horas (24).

#### 5. Lectura de las placas:

- 5.1 Después de 16 - 18 horas de incubación se examinó cada placa y se midieron los diámetros de las zonas de inhibición. Debido a que el microorganismo estudiado fue *Staphylococcus* spp. para vancomicina y oxacilina se incubó por 24 horas.
- 5.2 Se determinó la presencia del MRS con el uso del disco de oxacilina por ser el más apropiado para la detección de meticilina/oxacilina resistencia.
- 5.3 Se usó luz transmitida para examinar un ligero crecimiento de los aislamientos meticilino resistentes dentro de las zonas de inhibición. Cualquier desarrollo dentro de la zona de inhibición se tomó como indicativo de meticilino resistencia.
- 5.4 Para determinar la presencia del mecanismo de resistencia MLS, se observó la presencia de alguna acción inductora por parte de alguno de los dos discos de antibióticos (clindamicina y eritromicina) que pudiera estar deformando el halo de inhibición (achatándolo).

#### 6. Reporte

Los tamaños de las zonas de inhibición se interpretaron con tablas y los microorganismos se informaron sensibles o susceptible (S), intermedios (I) o resistentes (R), frente al antimicrobiano ensayado, tomando en cuenta si había o no presencia de MRS y el mecanismo de resistencia MLS, según las normas del Comité Nacional de estándares para Laboratorios Clínicos de Estados Unidos NCCLS (Anexo 1).



## **F. Diseño**

### **1. Análisis de datos**

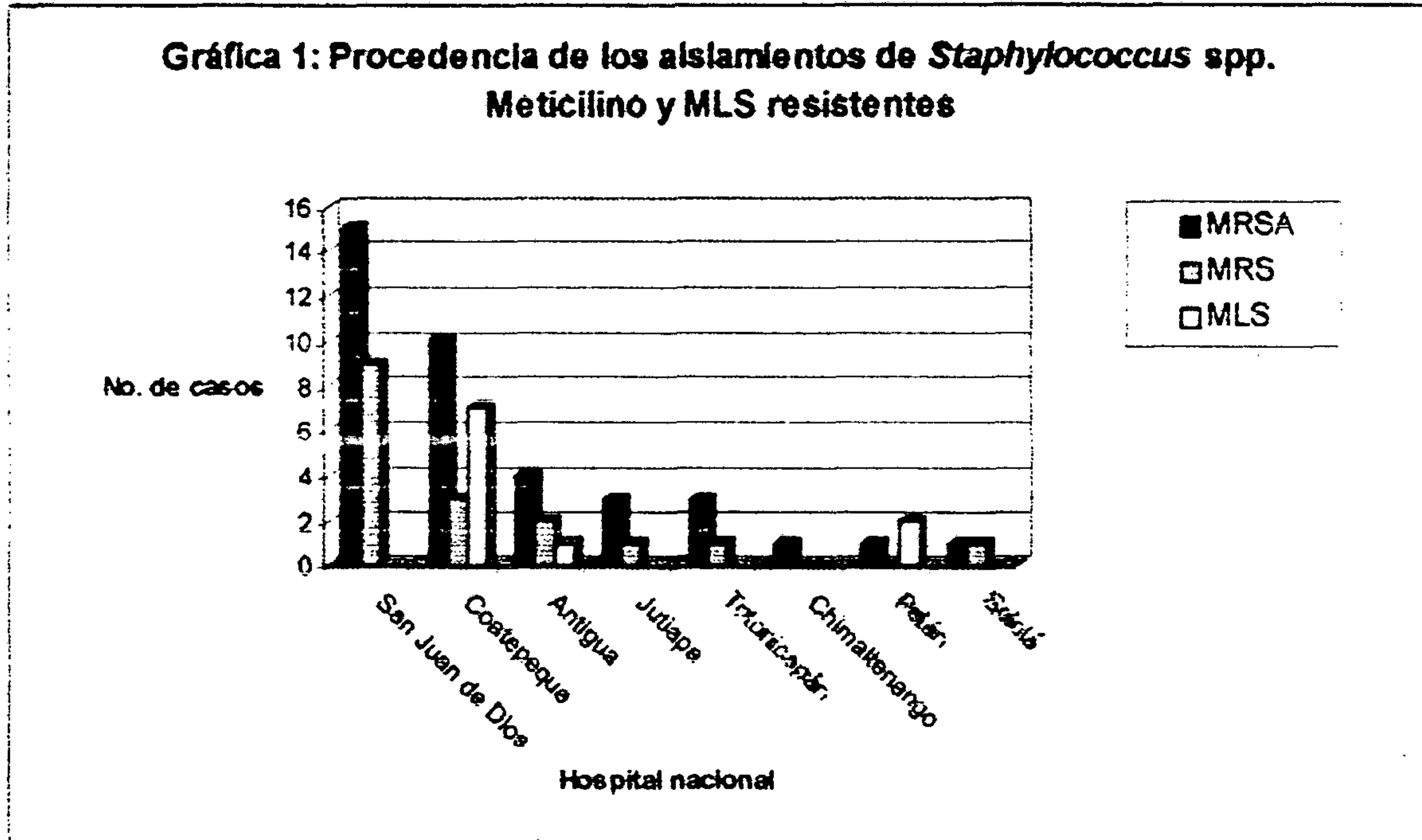
- a. Tipo de estudio: Descriptivo.
- b. Tamaño de muestra: Se analizaron 113 aislamientos de *Staphylococcus* spp., el tamaño de la muestra fue determinado por conveniencia, debido a la cantidad de recursos disponibles.
- c. Variables de interés: Halos de inhibición que mostraron a cada uno de los antibióticos los aislamientos analizados y Mecanismos de resistencia.

### **2. Análisis Estadístico**

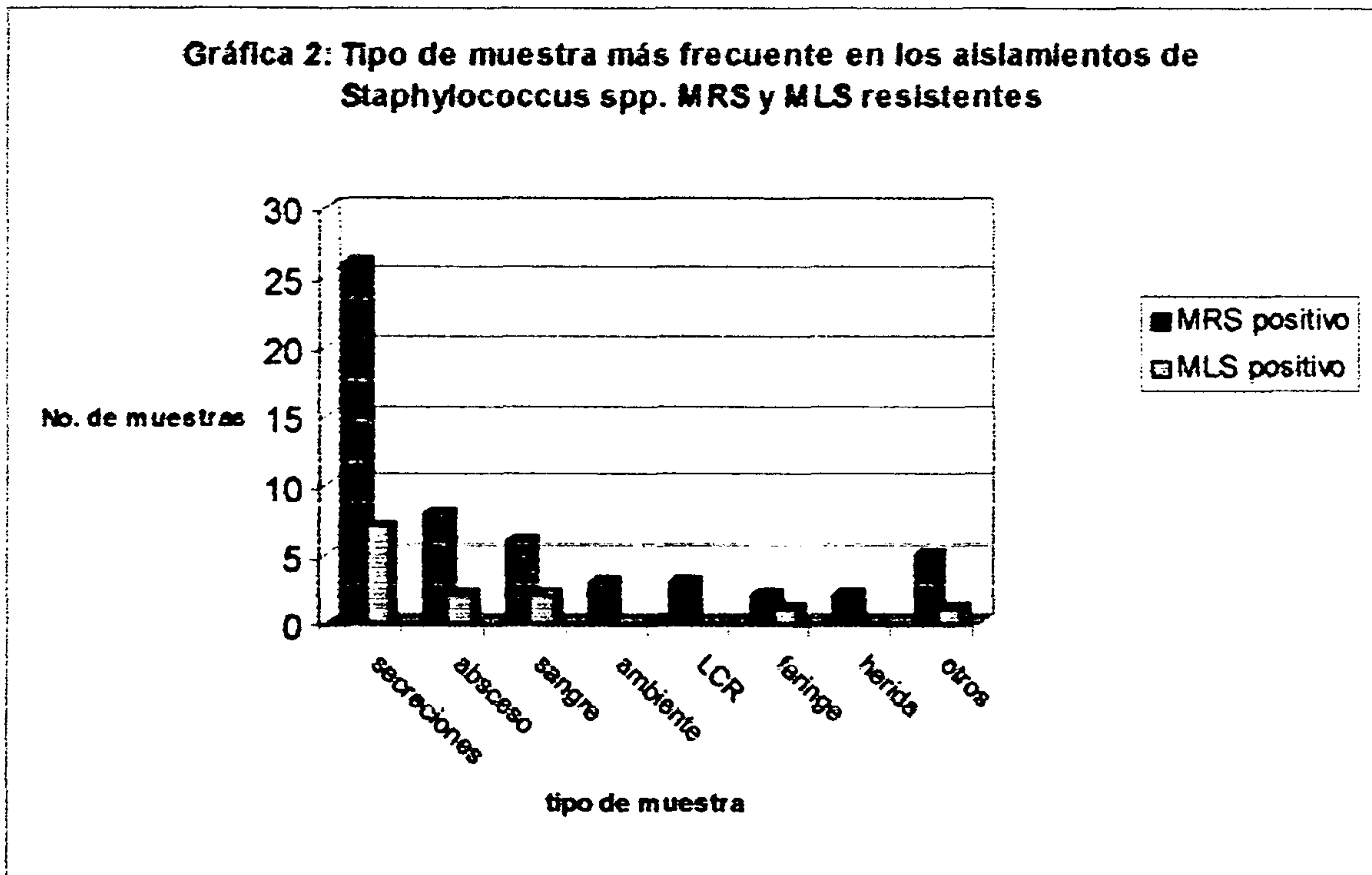
Se llevó a cabo un análisis de frecuencia para descripción de los aislamientos; a través del programa computarizado WHONET se realizaron gráficas con porcentajes para determinar la frecuencia de los mecanismos de resistencia.

## VII. RESULTADOS

El hospital que presentó el mayor número de casos MRSA y MRS fue el hospital San Juan de Dios, mientras que el de Coatepeque fue el que presentó ambos mecanismos, siendo el más alto en MLS con relación a los demás (gráfica 1).

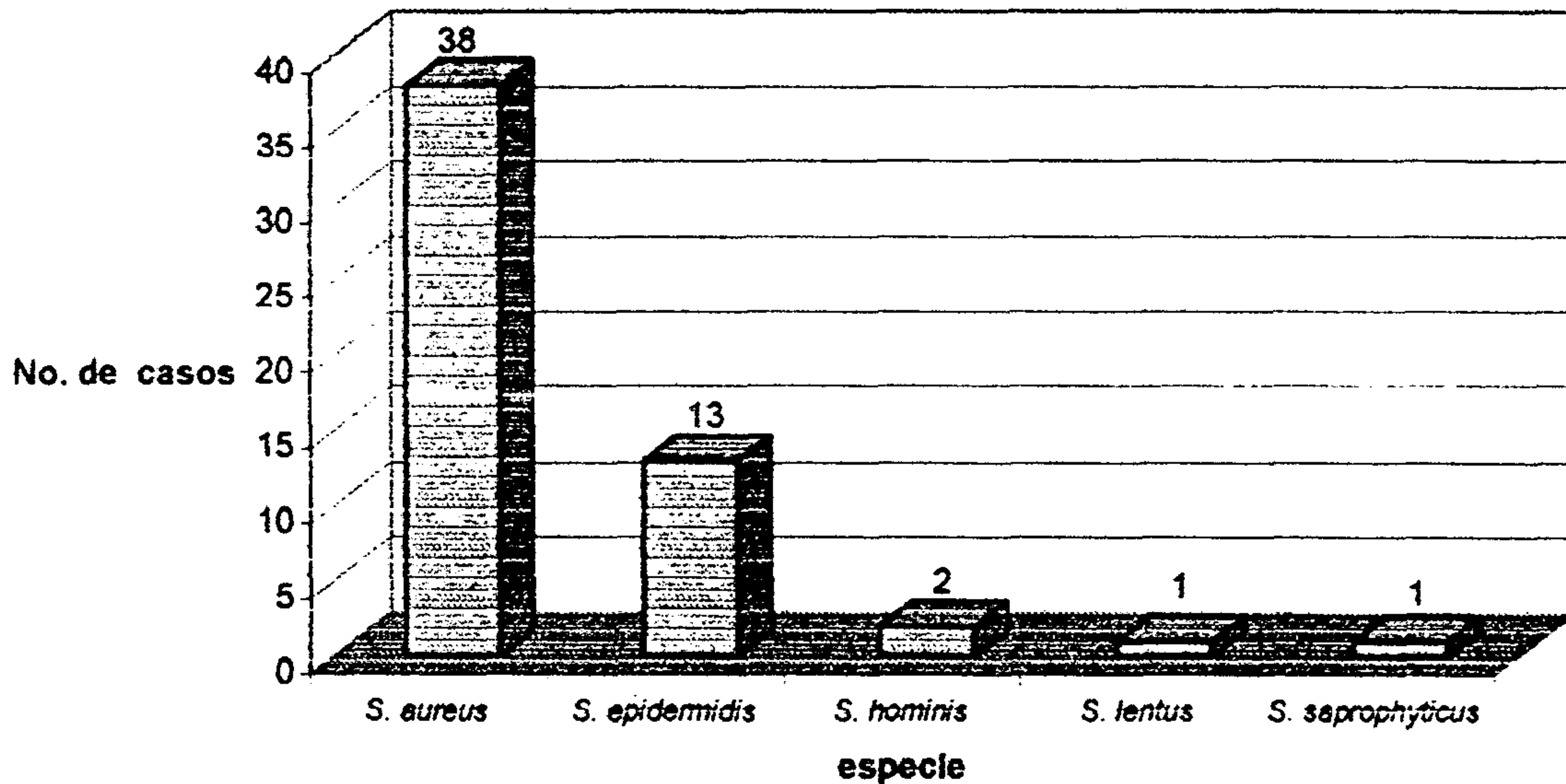


Se observó que el tipo de muestra más frecuente corresponde a secreciones varias para ambos mecanismos (gráfica 2).



Se observó que el microorganismo que presentó el mayor número de casos positivos en el mecanismo MRS fue *Staphylococcus aureus* (gráfica 3).

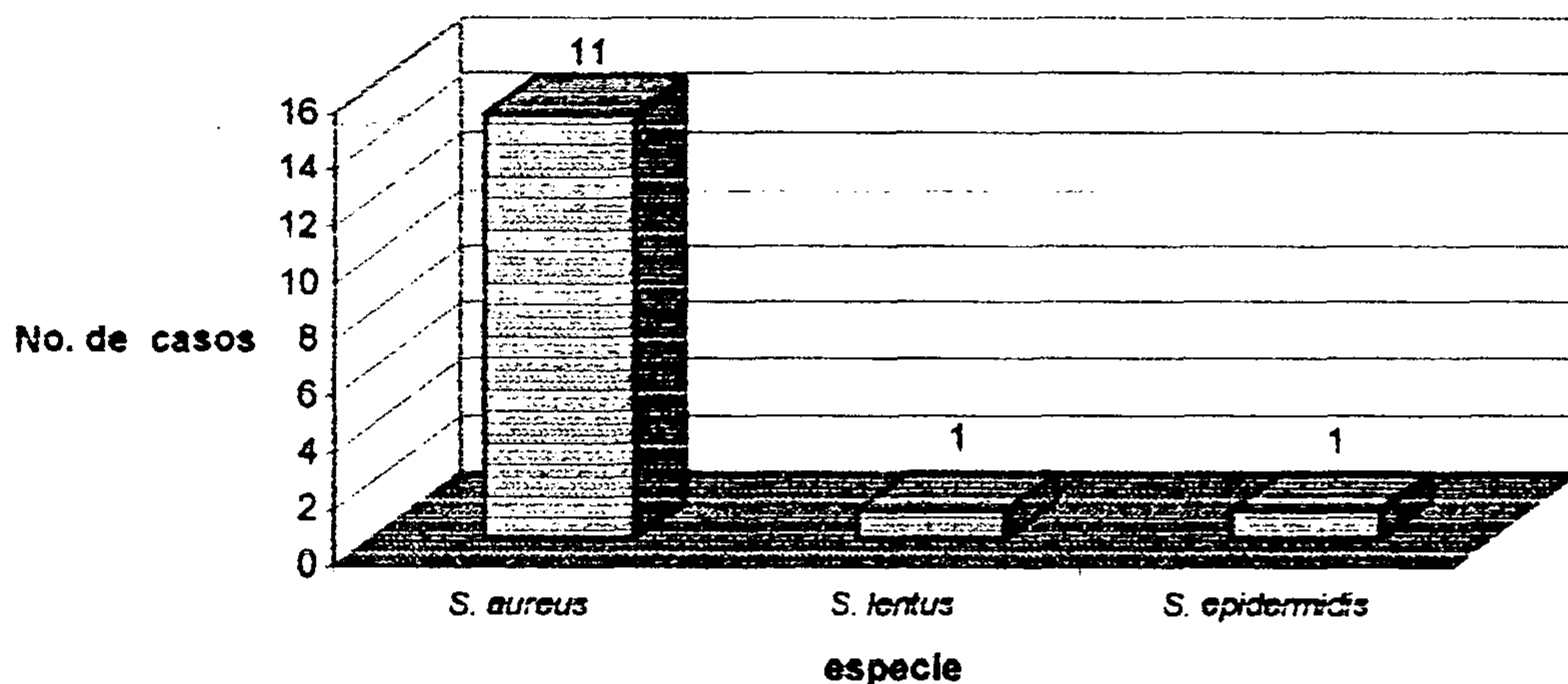
**Gráfica 3: Clasificación por especie de los aislamientos MRS positivos de *Staphylococcus* spp.**



Fuente: Datos experimentales

Se observó que el microorganismo que presentó el mayor número de casos positivos en el mecanismo MLS fue *Staphylococcus aureus* (gráfica 4).

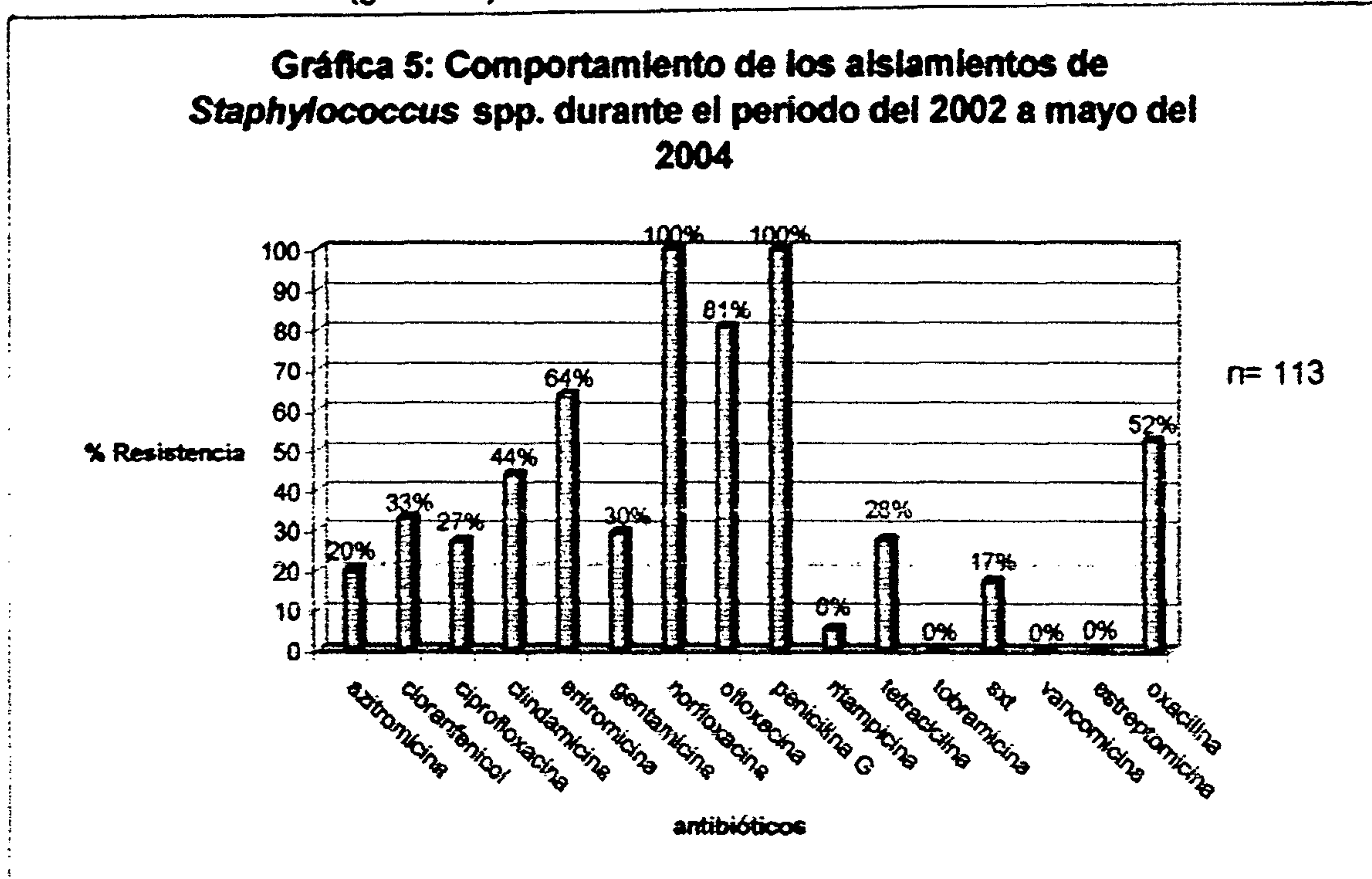
**Gráfica 4: Clasificación por especie de los aislamientos MLS positivos de *Staphylococcus* spp.**



Fuente: Datos experimentales

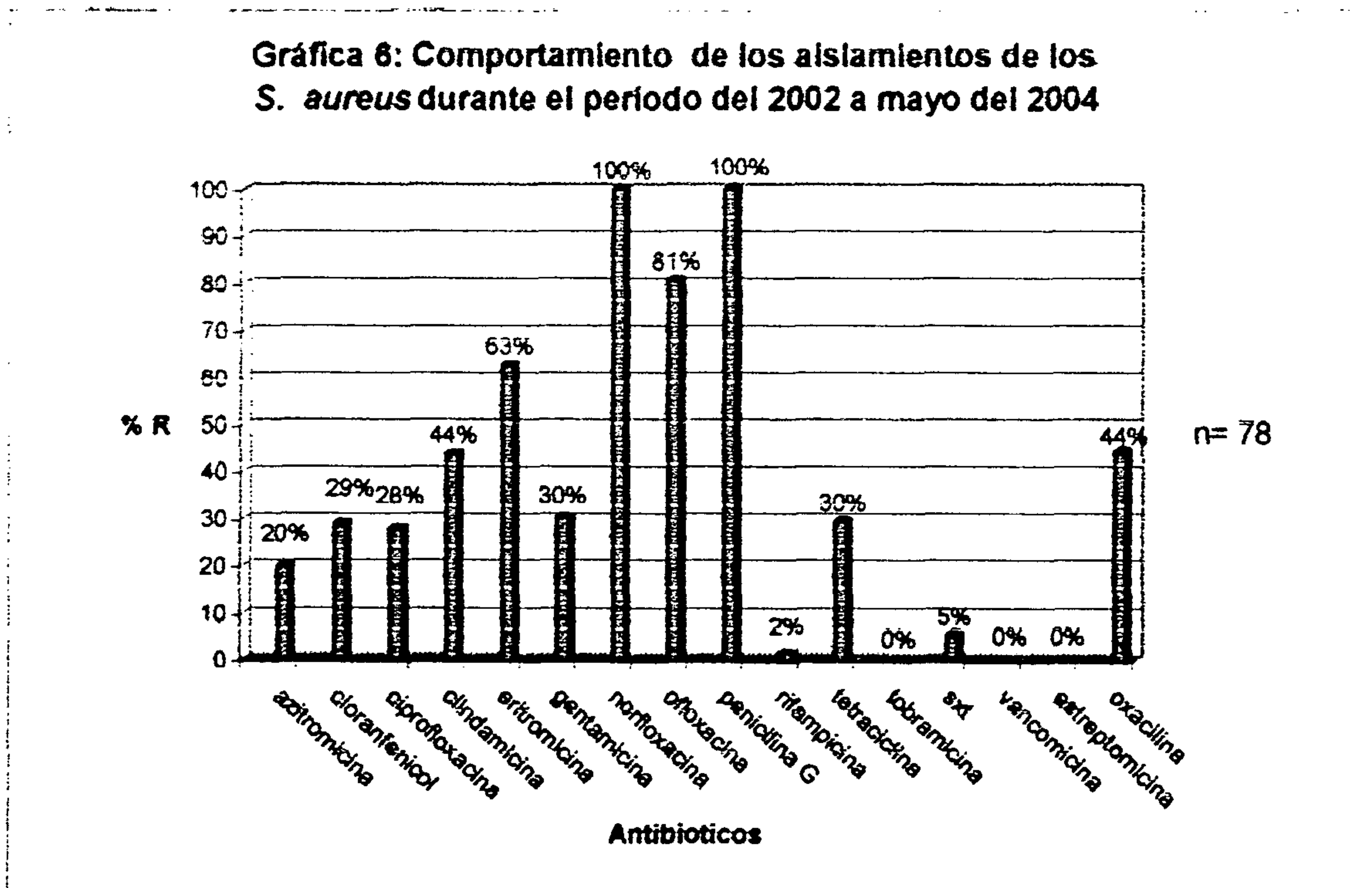


Las quinolonas y la penicilina fueron los antibióticos que predominaron con el porcentaje más alto de resistencia del total de aislamientos, con menor proporción en el resto de antibióticos (gráfica 5).



Fuente: Datos experimentales

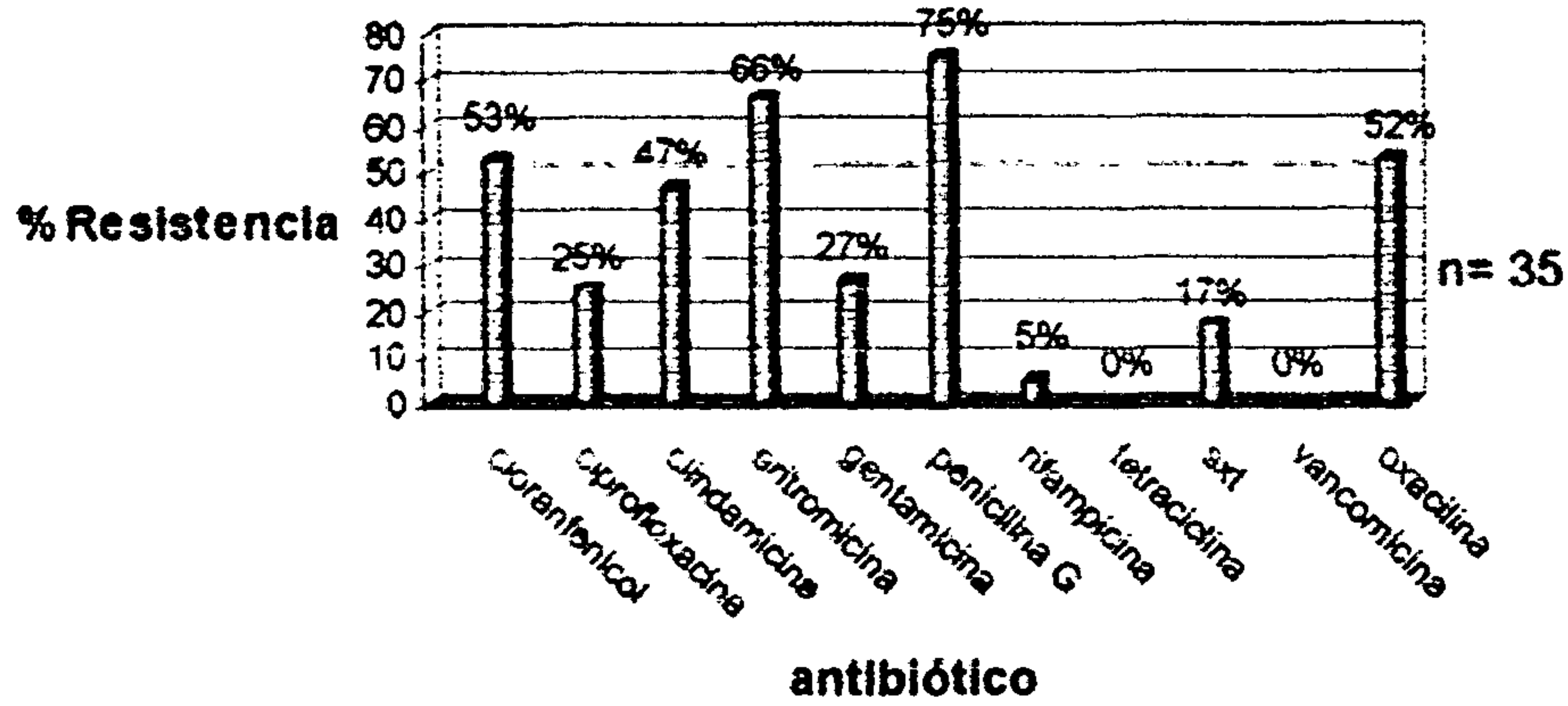
*S. aureus* mantuvo un porcentaje similar al encontrado en el total de aislamientos analizados, siendo el mayor porcentaje de resistencia para las quinolonas y penicilinas (gráfica 6).



Fuente: Datos experimentales R= Resistencia

La penicilina y macrólidos (eritromicina) presentaron los porcentajes de resistencia más altos comparado con los demás antibióticos utilizados (gráfica 7).

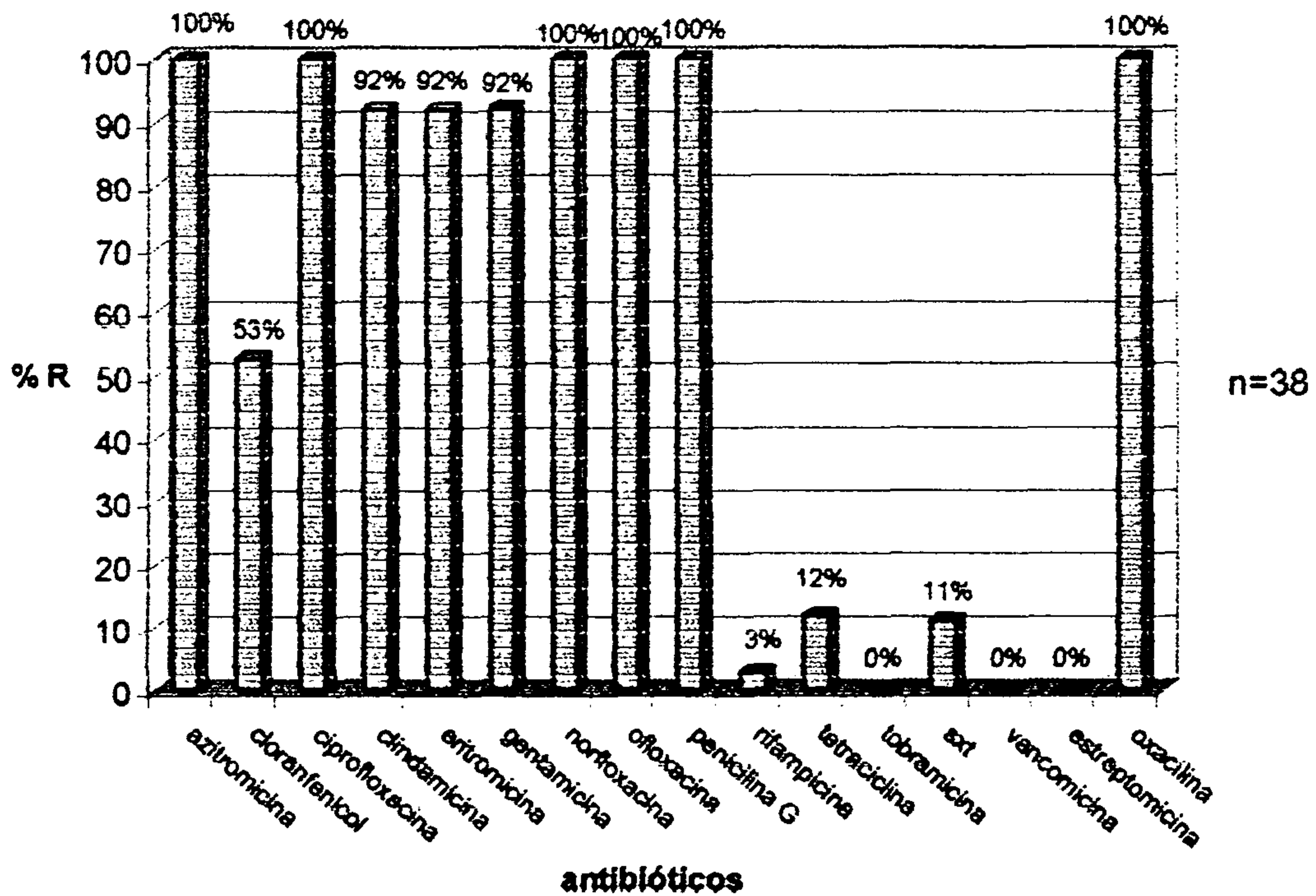
**Gráfica 7: Comportamiento de los aislamientos de los S. coagulasa negativo durante el período del 2002 a mayo del 2004**



Fuente: Datos experimentales

*Staphylococcus aureus* meticilino resistente presentó altos porcentajes de resistencia, 90% arriba a la mayoría de antibióticos utilizados (gráfica 8).

**Gráfica 8: S. aureus meticilino resistentes durante el período comprendido del 2002 a mayo del 2004**

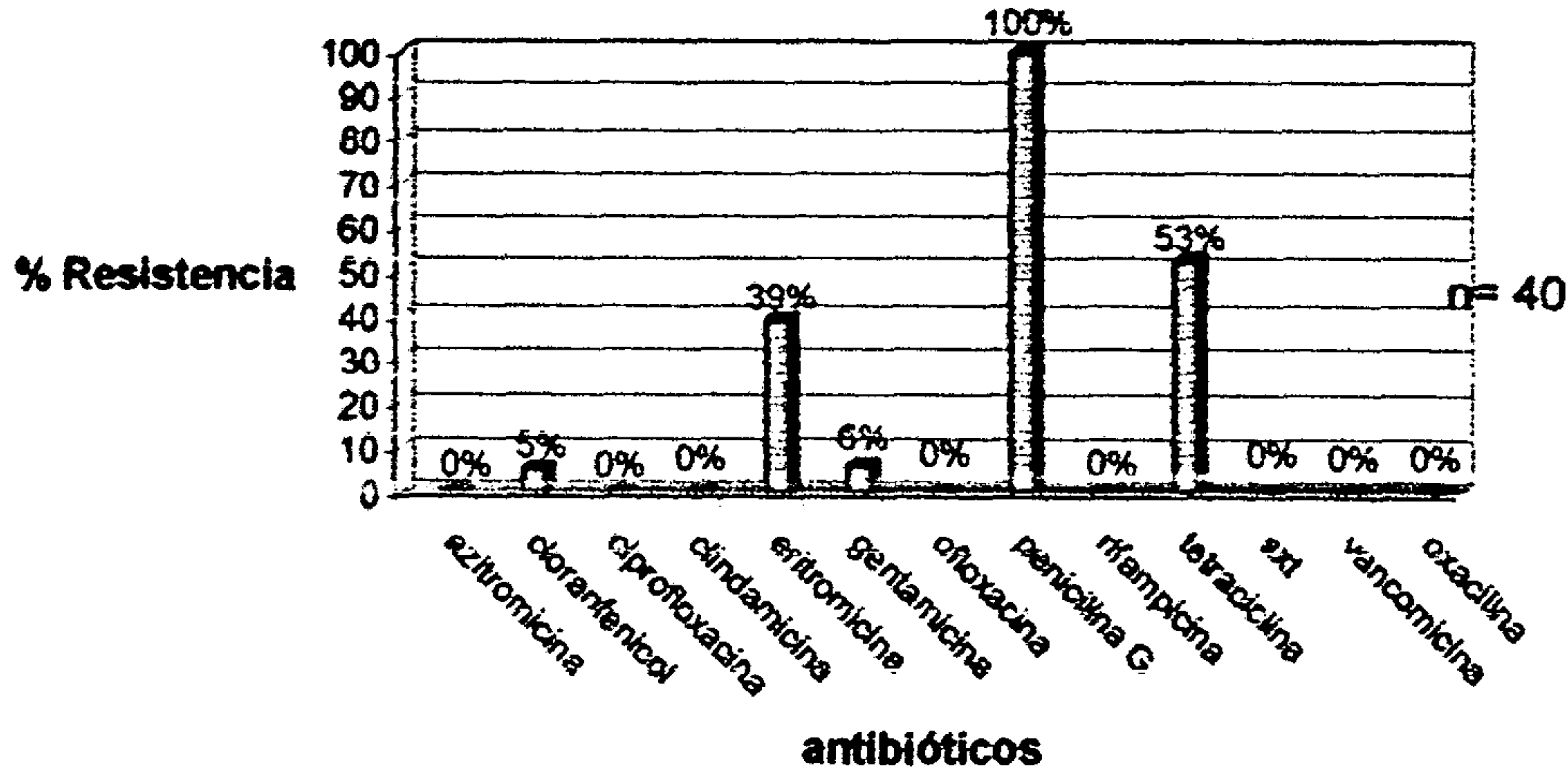


Fuente: Datos experimentales R=Resistencia



La penicilina es el único antibiótico que muestra un alto porcentaje de resistencia en los MSSA, cuatro más presentaron un porcentaje significativo, encontrándose en el resto 0% de resistencia (gráfica 9).

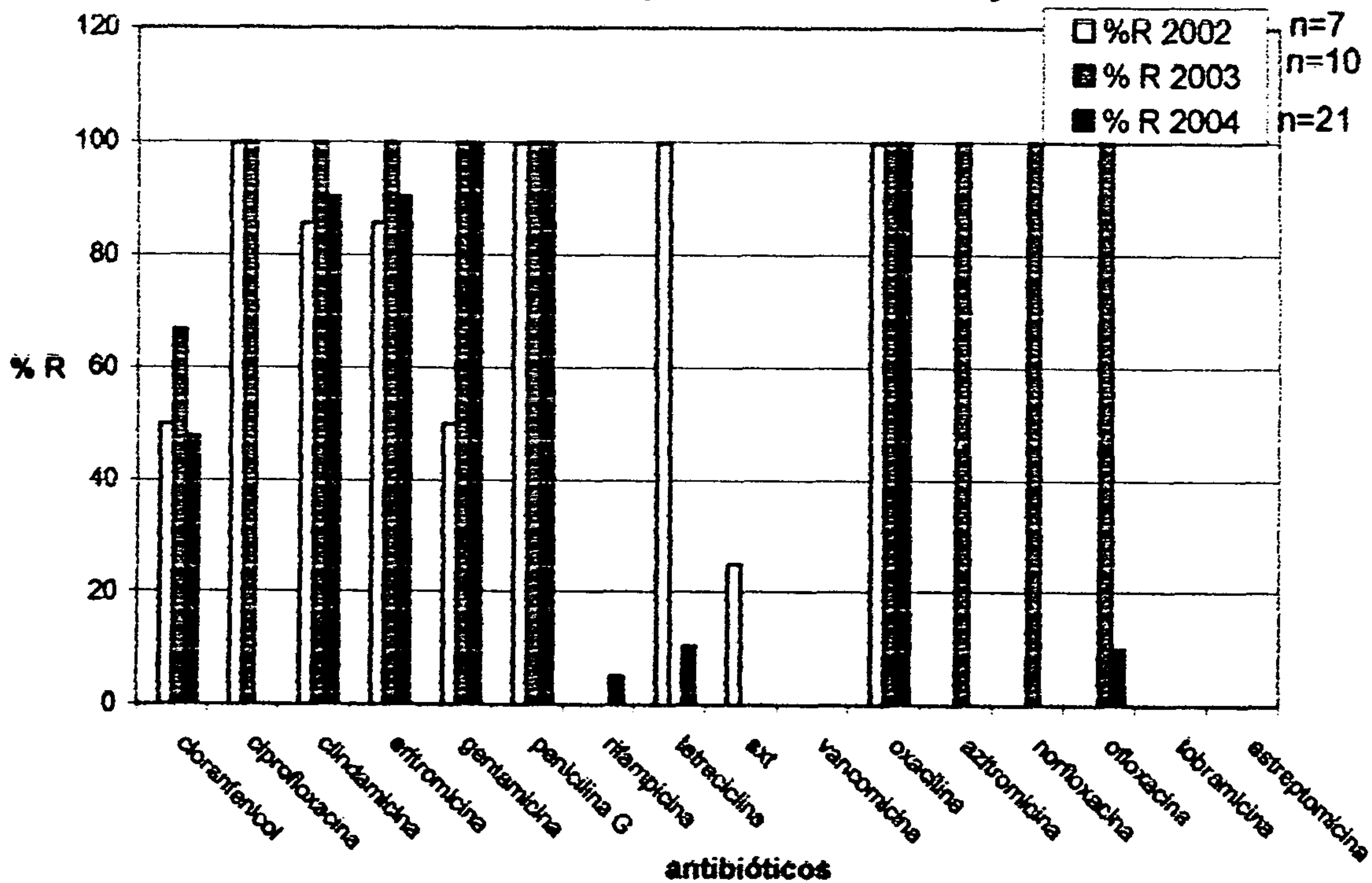
**Gráfica 9: *S. aureus* meticilino sensible durante el período comprendido del 2002 a mayo del 2004**



Fuente: Datos experimentales

Se encontró un incremento proporcional por año del mecanismo MRSA en los antibióticos utilizados (gráfica 10).

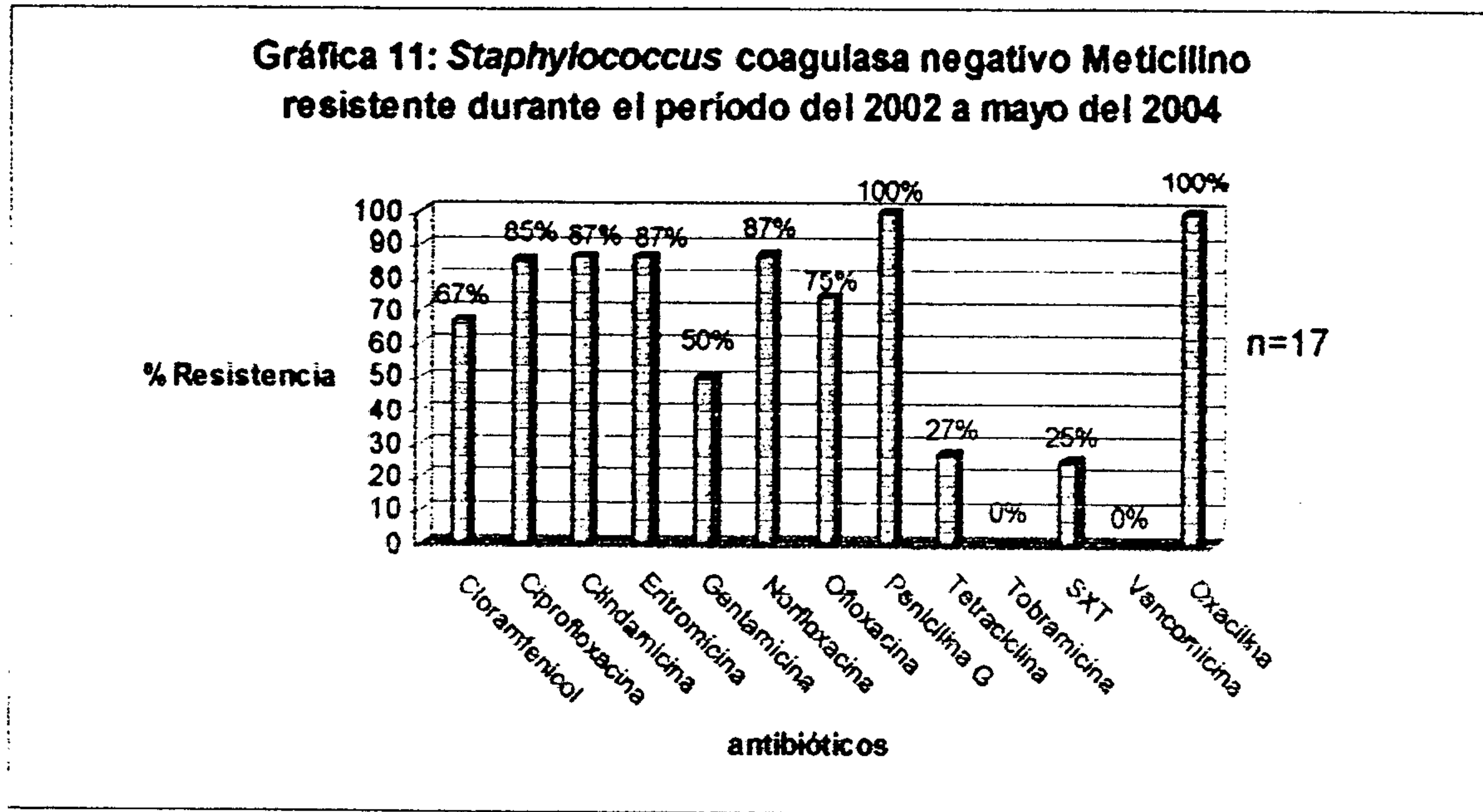
**Gráfica 10: Comparación por año del mecanismo MRS en *S. aureus* durante el período comprendido del 2002 a mayo del 2004**



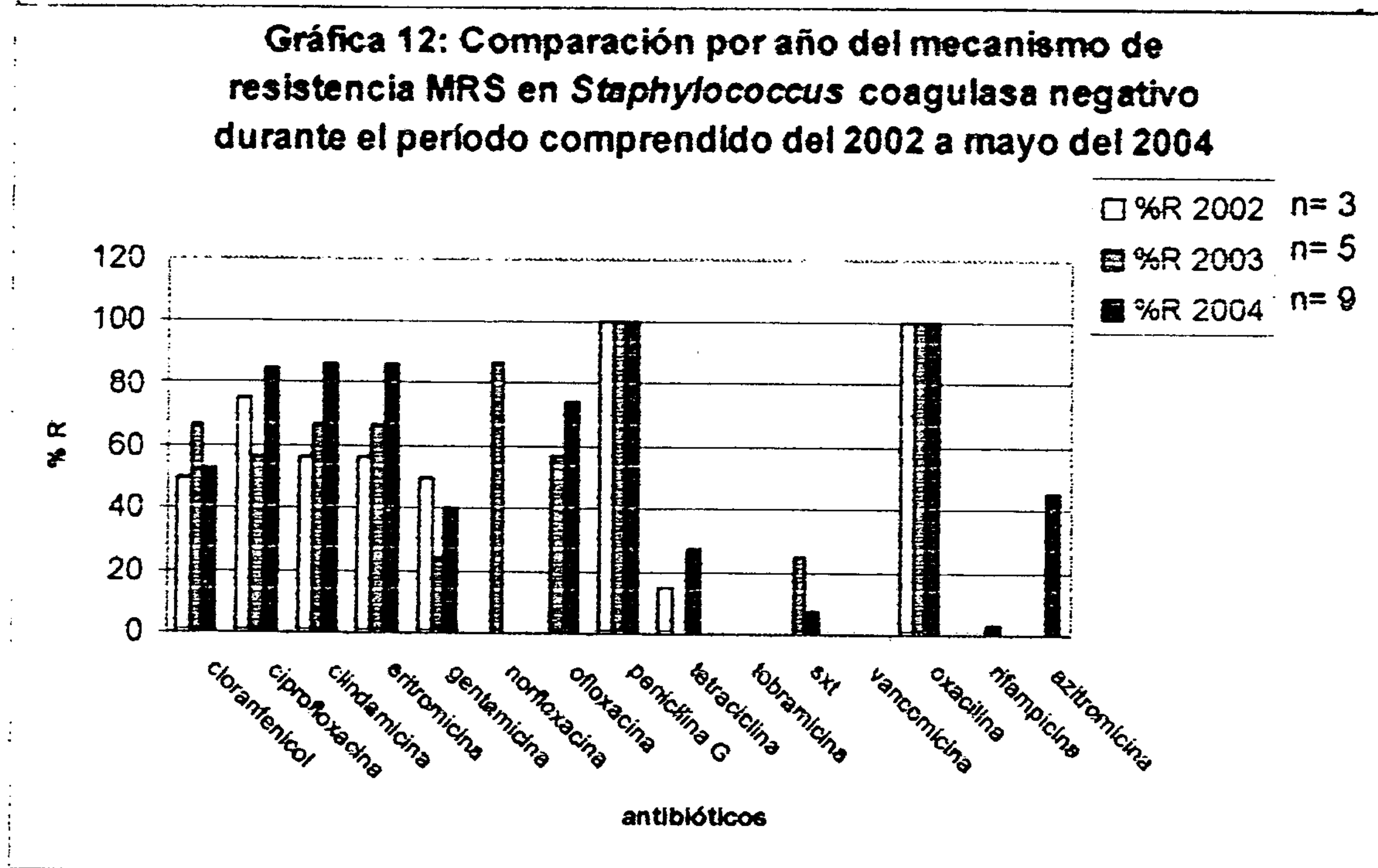
Fuente: Datos experimentales R= Resistencia



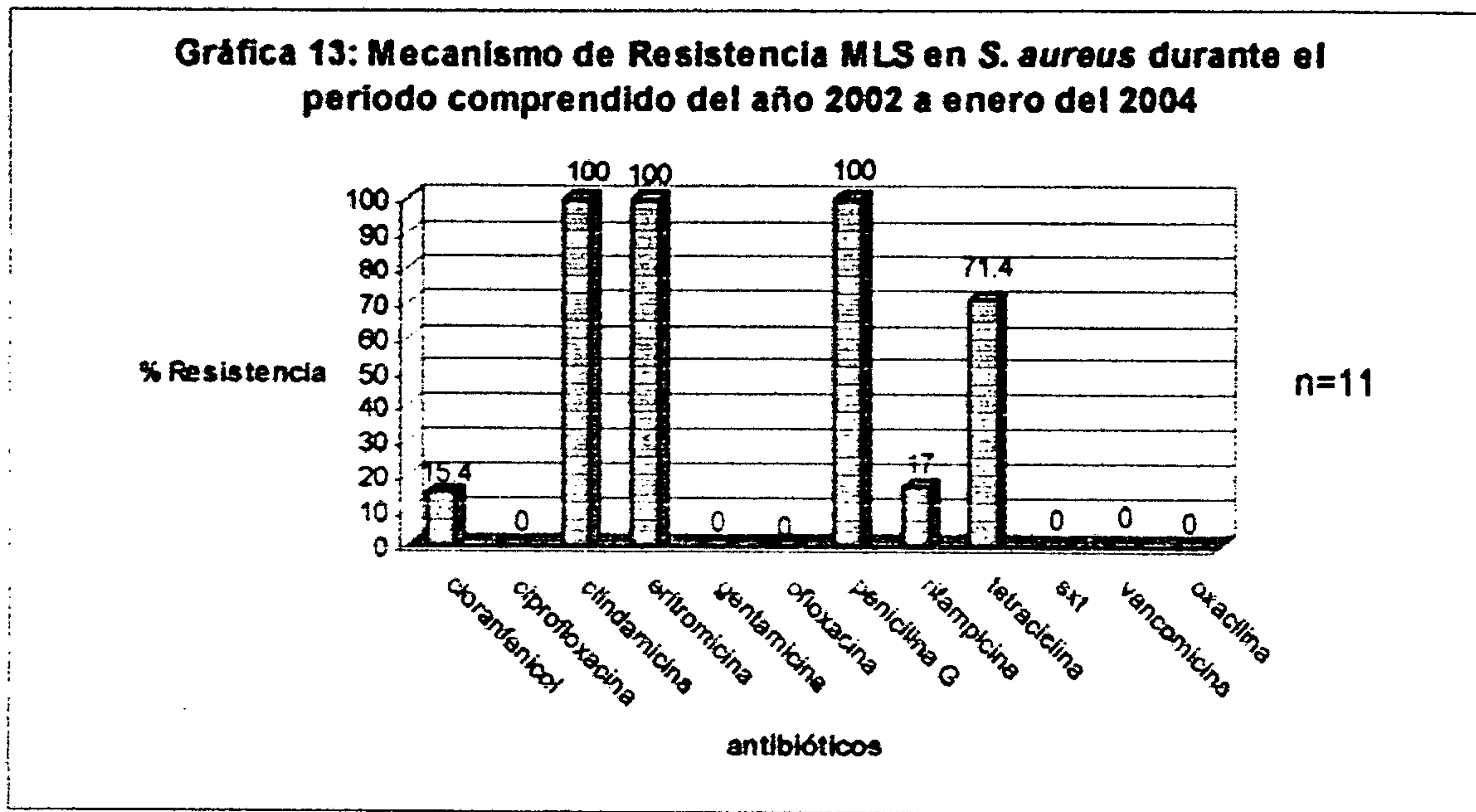
Los MRS presentaron un nivel alto de resistencia a once antibióticos de un total de trece antibióticos analizados (gráfica 11).



En el mecanismo MRS predominó el incremento de resistencia, siendo mayor en el año 2004 (gráfica 12).

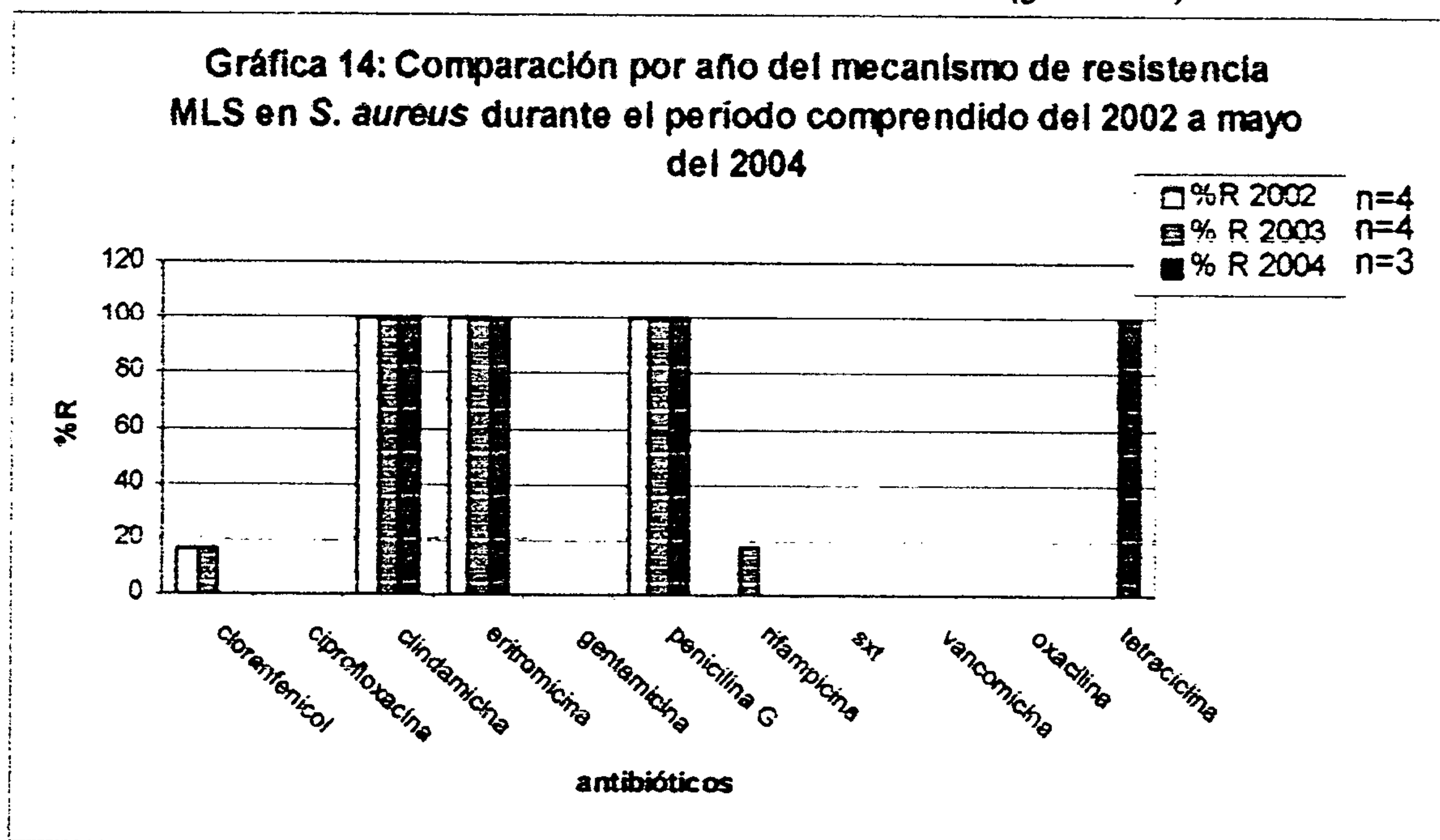


En el mecanismo MLS para *S. aureus* se encontró resistencia significativa en la mitad del total de los antibióticos utilizados (gráfica 13).



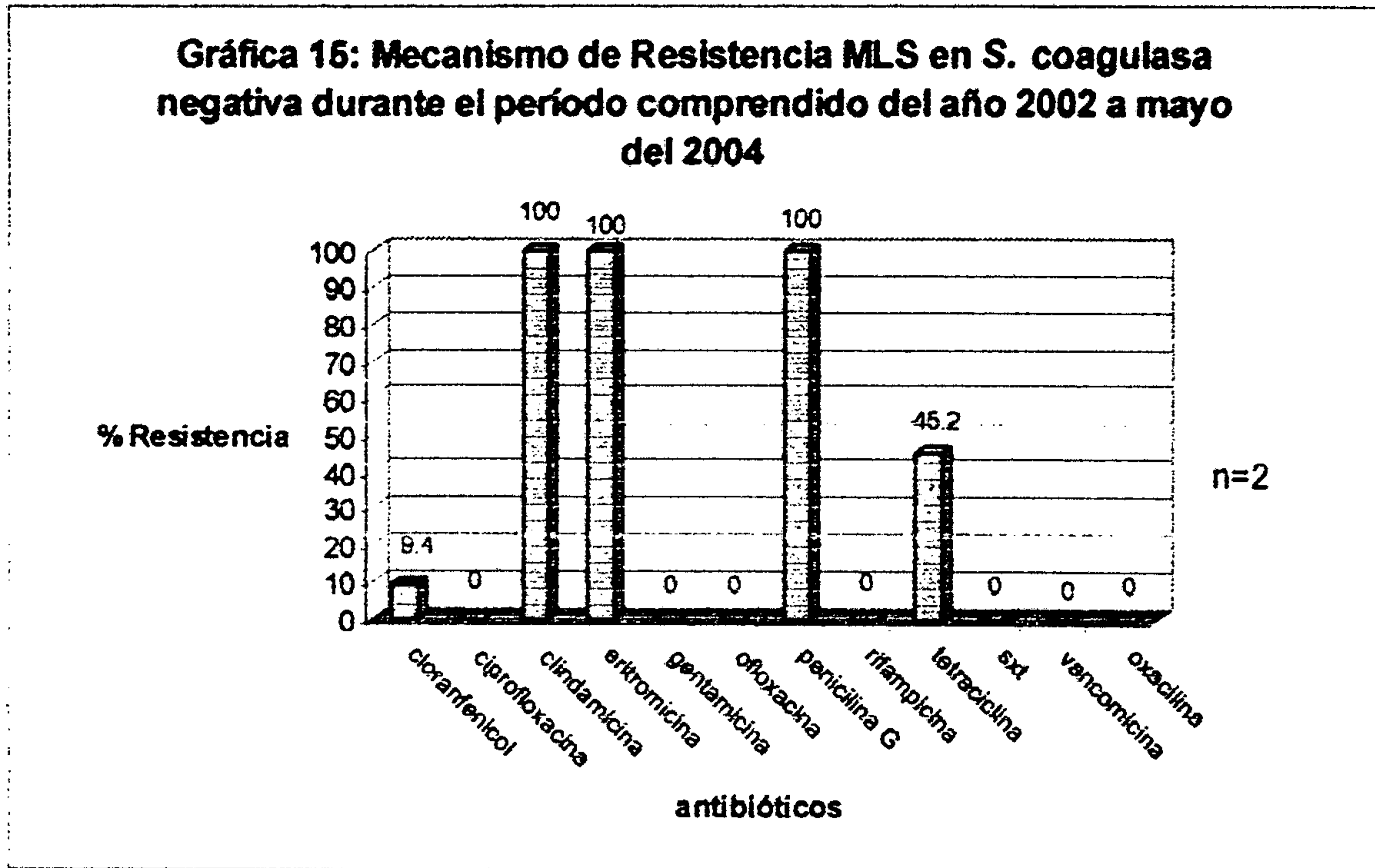
Fuente: Datos experimentales

El mecanismo MLS en *S. aureus* mantuvo un porcentaje de resistencia similar hasta el 2004, en donde además se encontró resistencia a la tetraciclina (gráfica 14).



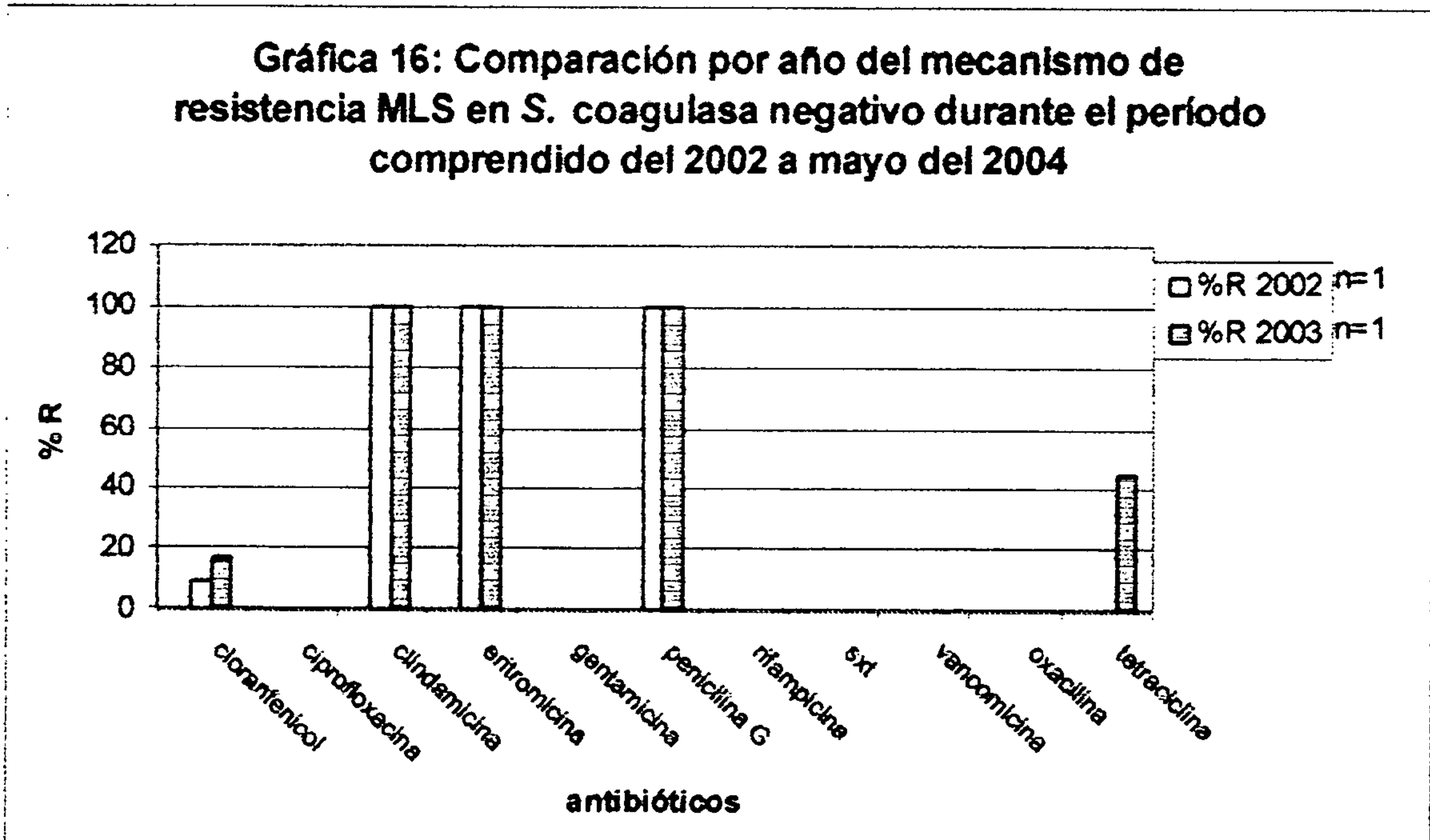
Fuente: Datos experimentales R=Resistencia

En los *Staphylococcus coagulasa* negativa se encontró resistencia para el mecanismo MLS en cinco del total de antibióticos utilizados (gráfica 15).



Fuente: Datos experimentales

El mecanismo MLS en *Staphylococcus coagulasa* negativa mantuvo un porcentaje de resistencia similar hasta el 2004, en donde se encontró resistencia a demás a la tetraciclina (gráfica 16).



Fuente: Datos experimentales R=Resistencia



## XI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el estudio se evaluó el comportamiento de 113 aislamientos de *Staphylococcus* spp., incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativa* encontrándose entre estos (*S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. capitis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. warneri* y *S. haemolyticus*), captados en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS), que provenían de diferentes hospitales Nacionales Departamentales del periodo comprendido del 2002 a mayo del 2004.

Se evaluaron algunos Mecanismos de Resistencia, para lo cual, se tomaron en cuenta dos de los más importantes que pueden desarrollar este tipo de bacterias siendo estos: *Staphylococcus* resistentes a la Meticilina (MRS) y *Staphylococcus* resistentes a Macrólidos, Lincosaminas y Estreptograminas (MLS). Clasificándoseles por Hospital de procedencia, así como también se agruparon de acuerdo al tipo de muestra evaluada.

De acuerdo con la procedencia de las muestras analizadas, se encontró que los Hospitales de Coatepeque, Antigua y Petén fueron los únicos que presentaron ambos mecanismos (MRS y MLS) entre los aislamientos analizados (Gráfica 1), siendo el mayor número de casos correspondientes al mecanismo de metilino resistencia con un total de 55 casos positivos (49 por ciento del total de aislamientos), clasificándolos en 38 MRSA y 17 MRS. Este hallazgo sugiere que en estos establecimientos probablemente no se han realizado las pruebas para la determinación de estos mecanismos; en muchos casos por no tener el conocimiento de la forma de llevarlas a cabo, o por no contar con los materiales necesarios. Realizando únicamente un antibiograma simple, y por consiguiente la terapéutica para los pacientes no ha sido la más adecuada, dando como consecuencia un porcentaje alto de resistencia a los antimicrobianos.

En cuanto al mecanismo de metilino resistencia (MRS) el que presentó la procedencia más alta fue el Hospital San Juan de Dios y la más baja el hospital de Chimaltenango. Los resultados de MLS positivos se detectaron en otros hospitales diferentes a los del mecanismo anterior siendo la procedencia más alta en el hospital de Coatepeque y la más baja en el hospital de Antigua, indicándonos que estos mecanismos no dependen uno del otro y la presencia de alguno de los dos no es indicio de la existencia del otro, ya que se encontraron ambos únicamente en algunos de los hospitales.

El tipo de muestra más frecuentemente asociado a la presencia de los *Staphylococcus* en los aislamientos analizados para ambos mecanismos, se tiene con el mayor número de casos a las secreciones varias (Gráfica 2), esto debido a que este tipo de bacterias principalmente *S. aureus* están presentes en la mayoría de procesos con formación de pus, como infecciones de la piel por heridas, quemaduras, secreciones óticas; quedando como los menos involucrados: catéteres, heridas quirúrgicas, leche materna y aspirados varios los cuales mostraron porcentajes bajos aunque significativos.

De los 113 aislamientos analizados (100 por ciento), se encontraron 55 casos positivos metilino resistentes (49 por ciento del total de aislamientos), de estos 38 correspondieron a MRSA y 17 a MRS (gráfica 3). Del total de aislamientos se encontraron 13 casos positivos para el mecanismo MLS resistente (12 por ciento del total de aislamientos); de estos 11 correspondieron a *S. aureus* y 2 a *Staphylococcus* coagulasa negativa (gráfica 4). De acuerdo a esto se observó que para ambos mecanismos los *S. aureus* presentaron el mayor número de casos positivos, lo que demostró que en nuestros hospitales nacionales esta especie ha desarrollado mecanismos de resistencia mucho más especializados y en mayor cantidad comparados con los de otras especies. Mecanismos que pueden ser propios de las bacterias (resistencia natural) o bien que los han adquirido a través del tiempo y que se van transfiriendo entre ellas a través de mutaciones; además de valerse hoy en día de la producción de  $\beta$ -lactamasas o las PBP's que son capaces de inactivar a diferentes tipos de antibióticos, entre estos la penicilina y los involucrados en ambos mecanismos.

De acuerdo con los datos del comportamiento de los 113 aislamientos, con respecto a los antibióticos analizados y los que muestran los resultados obtenidos según la especie de *Staphylococcus* (gráficas 5-7), comprueban una vez más que la especie de *S. aureus* tiende a presentar el mayor número de casos y porcentajes de resistencia en los antibióticos analizados comparados con las otras especies de *Staphylococcus*, indicando nuevamente que es muy importante la diferenciación en el hallazgo de coagulasa negativo y positivo para tomar la mejor decisión, en cuanto al uso de antibióticos en el momento de realizar el antibiograma. Tanto los *S. aureus* como los *Staphylococcus* coagulasa negativo mostraron un patrón de resistencia caracterizado por susceptibilidad únicamente a la vancomicina (0% de resistencia).



Se determinó el porcentaje de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina MRSA (gráfica 8), de donde se obtuvo 38 casos, y los *Staphylococcus* coagulasa negativo resistentes a la metilicina MRS (gráfica 11), de los cuales se obtuvo 17 casos (15 por ciento), comparado con los casos obtenidos de *S. aureus* sensibles a la metilicina MSSA (gráfica 9), de los cuales se obtuvo 40 casos; de donde se puede observar que al presentarse el mecanismo de resistencia MRSA y MRS también se presenta una alta resistencia en los otros antibióticos, en algunos casos hasta de un 100 por ciento insignia de multiresistencia, caso contrario al no estar presente este mecanismo en donde disminuye notablemente el porcentaje de resistencia a los demás antibióticos, presentando únicamente 100 por ciento de resistencia a la Penicilina G, un antibiótico al que ya se le ha limitado su uso, esto debido a la producción de  $\beta$ -lactamasas por parte de estas bacterias en donde ya no es funcional.

Comparando el porcentaje de diferencia en el comportamiento anual que presentaron los aislamientos de MRSA (gráfica 10) y los aislamientos MRS (gráfica 12), se aprecia que el año que presentó el mayor número de casos (21 para MRSA y 9 para MRS), al igual que el mayor porcentaje de resistencia comparado con los otros años fue el 2004. En estas gráficas se puede apreciar que la mayoría de antibióticos tendían a presentar niveles mayores de resistencia en el último año analizado.

De aquí se deriva que el estar presente el mecanismo de Metilicina resistencia en los aislamientos de *Staphylococcus* spp. podría ser indicio de multiresistencia; comparado con estudios realizados en otros países, como por ejemplo en Chile; los resultados son similares a los encontrados en esta investigación (32). Debido a que en todos los casos cuando se presentó resistencia a la oxacilina existía un comportamiento marcado de alta resistencia a los demás antibióticos analizados, incluyendo otros B-lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, lincosaminas e incluso quinolonas, presentándose generalmente 100 por ciento de resistencia a ciprofloxacina, eritromicina, clindamicina, gentamicina y penicilina G, no siendo estos recomendables para tratar las enfermedades causadas por los aislamientos analizados; disminuyendo así la gama de los posibles antibióticos usados para tratar las infecciones causadas por estas bacterias limitándose el tratamiento a 2 o 3 antibióticos especialmente los glucopéptidos, los cuales presentan un 0 por ciento de resistencia, quedando prácticamente como únicas opciones de tratamiento para estos microorganismos si se sigue dando un uso inadecuado a los medicamentos.



El mecanismo MLS, que se determinó utilizando los discos de clindamicina y eritromicina, considerándose positivo al haber un achatamiento o deformación en el halo, se tienen 13 casos positivos en total. De estos aislamientos, 11 casos son *Staphylococcus aureus* (gráfica 13), y 2 son *Staphylococcus coagulasa negativa* (gráfica 15).

En este caso, al contrario del mecanismo MRS se observó que la presencia del MLS tanto en los *S. aureus* como en los *Staphylococcus coagulasa negativa* no interfirió con respecto a la resistencia de los demás antibióticos. No mostrando altos porcentajes de resistencia en otros medicamentos analizados conjuntamente presentando en la mayoría un 0 por ciento de resistencia, indicando que estos pueden ser utilizados de manera confiable como parte de la terapéutica en estos aislamientos.

Además se encontró que en este mecanismo la oxacilina muestra 0 por ciento de resistencia a diferencia del MRSA, el cual interactúa con los otros antibióticos correspondientes al análisis del mecanismo MLS mostrando resistencias altas y similares en la eritromicina y clindamicina.

En la comparación que se hizo por año del mecanismo de resistencia MLS, tanto en el caso de *S. aureus* (gráfica 14), así como en el de *Staphylococcus coagulasa negativa* (gráfica 16); el número de antibióticos con un alto porcentaje de resistencia fue de 3 a 4 únicamente. Mostrando a través de los tres años analizados pocas variantes y por lo tanto un perfil de resistencia similar, con excepción del año 2004, en donde se presentó resistencia a la tetraciclina.

## IX. CONCLUSIONES

1. Si existe la presencia de los mecanismos de resistencia MRS y MLS en los aislamientos de *Staphylococcus spp.* analizados, encontrándose 38 casos de MRSA, 17 casos de MRS, 11 casos de *S. aureus* MLS resistentes y 2 casos de *Staphylococcus coagulasa negativa* MLS resistentes de los 113 aislamientos analizados.
2. El número de casos de metilino resistencia va en aumento a través de los años, observándose que en el 2004 existen porcentajes arriba del 50 por ciento en la mayoría de antibióticos, indicando que la presencia de este mecanismo es sinónimo de Multiresistencia.
3. Al comparar el mecanismo MRSA con el MSSA se tiene una diferencia marcada en cuanto al porcentaje de resistencia, presentando el MRSA porcentajes altos de resistencia en la mayoría de antibióticos, a diferencia del MSSA en el cual la mayoría de antibióticos presentan 0 por ciento de resistencia.
4. El mecanismo MLS no presentó el fenómeno de multiresistencia, ya que la mayoría de antibióticos se mostraron susceptibles, dejando un margen más amplio de posibles opciones terapéuticas.
5. Los *S. aureus* presentaron el mayor número de casos positivos para MRS y MLS, lo que sugiere el desarrollo de mecanismos más complejos comparado con los *Staphylococcus coagulasa negativa*.
6. Existe una diferencia significativa entre los mecanismos de resistencia MRS y MLS, presentando el MRS resistencia por arriba del 50 por ciento en la mayoría de antibióticos (multiresistencia), caso contrario al MLS el cual muestra porcentajes de resistencia por arriba del 50 por ciento únicamente en 3 antibióticos dejando más opciones terapéuticas.

## X. RECOMENDACIONES

1. Alertar a los Hospitales Nacionales Capitalinos y Departamentales implicados para que tomen las medidas epidemiológicas de la adecuada esterilización de equipo medico-quirurgico para evitar contaminación de pacientes.
2. Utilizar antisépticos idóneos en la red de hospitales nacionales que garanticen la eliminación de bacterias nosocomiales como las implicadas en el presente estudio.
3. Realizar vigilancia epidemiológica nosocomial realizando periódicamente cultivos en áreas de mayor riesgo de contaminación de *Staphylococcus*.
4. Capacitar a los técnicos de laboratorio encargados del área de bacteriología para que conozcan la forma de detección de los mecanismos de resistencia MRS y MLS, la forma de interpretarlos y reportarlos para evitar proporcionar un tratamiento inadecuado a los pacientes.
5. Informar al personal médico y paramédico los mecanismos de resistencia estudiados para actualizar la información de cada hospital respecto a los hallazgos y los nuevos avances tecnológicos en el aislamiento de bacterias.



## XI. REFERENCIAS

1. Sydney MF. Diagnóstico Microbiológico. 6 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1983. (p.51-154).
2. Wolfgang KJ. Microbiología de Zinsser. 2 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1994. (p.555).
3. Koneman EW. Diagnóstico Microbiológico. 5 ed. Estados Unidos: Médica Panamericana, 1999. (p.527-537).
4. Jawetz E. Manual de Microbiología Médica. 3 ed. México: El Manual Moderno, 1990. (p.185-189).
5. Wilkinson BJ. Staph. in human disease. Churchill Lovongston. 2002 (p.1-36).
6. Koneman EW. Color Atlas and textbook of diagnostic Microbiology. 4 ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company, 1992. (p.405-420).
7. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Eng J Med, Vols, 2, Vol. 1, 1998. (p.523-530).
8. Cedric M. Microbiología Médica. 2 ed. España: Harcourt Brace, 1999. (p.45).
9. Remo MB. Antibióticos. 5 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1993. (p.180-202).
10. Volk W. Microbiología Básica. 7 ed. México: Harla S.A., 1996. (p.239-240)
11. Condiciones anaerobias del *Staphylococcus*. Documento disponible en [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/serv\\_lab/aerobios Staphylococcus.html](http://www.ispch.cl/lab_amb/serv_lab/aerobios_Staphylococcus.html), Fecha de consulta: 6/Abril/2004
12. Cortes J. Prueba de la catalasa. Documento disponible en <http://www.joseacortes.com/microbiología/pruebas.bioq/catalasa.htm>, Fecha de consulta: 9/Febrero/2004.

13. Mathew F. Factor de aglutinación y coagulasa. Documento disponible en <http://bilbo.edu.uy/microbio/coagulasa.html>, Fecha de consulta: 9/Febrero/2004.
14. Pugdomenech GL. Microbiología; Patógenos bacterianos. Documento disponible en <http://www.monografias.com.htm>, Fecha de consulta: 9/Febrero/2004.
15. Iriberrí A. Neumonía. Documento disponible en <http://www.el.mundo.es.com.htm>, Fecha de consulta: 21/Febrero/2004.
16. Diccionario de las infecciones. Documento disponible en <http://www.salud.bayer.es/infeccion/dic.htm>, Fecha de consulta: 21/Febrero/2004.
17. Zonilla E. Las enfermedades infecciosas. Documento disponible en <http://www.mmhs.com.htm>, Fecha de consulta: 22/Marzo/2004.
18. Francisco GG. Otitis. Documento disponible en <http://www.amalas.es/-fcoglez21/otitis.htm>, Fecha de consulta: 6/Abril/2004.
19. Zagaceta RM. Antibióticos. Documento disponible en <http://www.lafacu.com/apuntes/biología/antibióticos/default.htm> Fecha de consulta: 9/Febrero/2004.
20. Bell G. Antibióticos. Documento disponible en <http://www.members.tripod.com/fotografias/textos/antibióticos1.htm> Fecha de consulta: 9/Febrero/2004.
21. Bell G. Penicilina. Documento disponible en <http://www.mebers.tripod.com/fotografias/textos/penicilina.htm>, Fecha de consulta: 6/Abril/2004.
22. Carsolio MR. Guía Profesional de Medicamentos. 2 ed. México: Manual Modemo, 1984 (p.79-129).

23. Cosme V. Macrólidos. Documento disponible en <http://www.erosurveillance.org.htm>, Fecha de consulta: 13/Febrero/2004.
24. Wayne PA. Performed standard for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS Aprobado Standard M100-S9. National Comitee for Clinical Laboratory Standars, 1999. Documento disponible en <http://www.cdc/ntidod/hit/lad/factSheet/sbl.htm>, Fecha de consulta: 13/Febrero/2004.
25. Fernández I. Terapéutica. Documento disponible en <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/at.bfa/cli/clinda-miana.htm>, Fecha de consulta: 20/Febrero/2004.
26. Plan de acción de salud pública para combatir la resistencia a los antimicrobianos. Panamá, 2001. Documento disponible en [http://www.paho.org/spanish/DB/es/10 TEMAS Accion.pdf](http://www.paho.org/spanish/DB/es/10_TEMAS_Accion.pdf), Fecha de consulta: 13/Febrero/2004.
27. Cisneros C. Mecanismos de farmacorresistencia en poblaciones y subpoblaciones bacterianas. México: Harla S.A, 1997. (p.18-25).
28. Morón FJ. Farmacología General. La Habana, Cuba: Ciencias Medicas, 2002. (p.165-182).
29. Cockerill F. Symposium on antimicrobial agent. Conventional and Genetic Laboratory test used to Guide antimicrobial Therapy. 1998. (p.1000-1021).
30. Prado G. B-lactamasas de espectro extendido. Bogotá: 2001. Disponible en [http://www.abcmedicus.com/articulo/medicos/id/186/paginas/1/bactamas.espectro\\_extendido.html](http://www.abcmedicus.com/articulo/medicos/id/186/paginas/1/bactamas.espectro_extendido.html), Fecha de consulta: 6/Abril/2004.
31. Camarena JJ, Sánchez R. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. Departamento de Microbiología, Hospital Universitario. Valencia. Disponible en [http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/pdf/saren.pdf](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/saren.pdf), Fecha de consulta: 6/Abril/2004.



32. Chrystal JL. Evaluación de susceptibilidad *in vitro* de *Staphylococcus* spp. Rev. Chil. Infectol. 2002, Vol. 19: Supl. 2, p (116-118). Documento disponible en <http://www.infectol.com.htm> Fecha de consulta: 17/Febrero/2004. Reconsulta: 8/Enero/2006
33. Sussmann OA. Resistencia bacteriana. Documento disponible en <http://www.med.javeriana.edu.co.htm>, Fecha de consulta: 20/Febrero/2004.
34. Struelens O.D. *S. aureus* resistentes a la meticilina. Brusellas, Bélgica. 2000. Documento disponible en <http://www.eurosurveillance.org.htm>, Fecha de consulta: 13/Febrero/2004.
35. Valdivia P. Pruebas de Sensibilidad. Documento disponible en <http://www.geocities.com/origardeweg/page38.html>, Fecha de consulta: 20/Febrero/2004.
36. Cercenado E. Resistencia a los antibióticos. Documento disponible en <http://www.clinfec.edu.uy.html>, Fecha de consulta: 17/Febrero/2004.
37. Seral, FJ. Asociación de genes de resistencia a antibióticos MLS y a tetraciclina. Documento disponible en <http://www.seq.es.html>, Fecha de consulta: 17/Febrero/2004.
38. García LF. Factores Asociados con Infecciones causadas por *S. aureus* resistentes a la meticilina, adquiridas en el Hospital General San Juan de Dios. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002.
39. Informe Anual Regional de los países participantes en la red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los antibióticos. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, 2002. (p.58-59)
40. Picazo J. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad. Documento disponible en [www.seimc.org.html](http://www.seimc.org.html), Fecha de consulta: 20/Febrero/2004.


XII. ANEXOS

**Anexo 1**  
**Interpretación de los diámetros de las zonas**  
**de inhibición (mm) para *Staphylococcus* spp.**

Agente antimicrobiano	Contenido del disco	Resistente	Intermedio	Moderadamente susceptible	Susceptible
Amoxicilina-ácido clavulánico	20/10 mcg	≤ 19			≥ 20
Ampicilina	10 mcg/7ml	≤ 28			≥ 29
Ampicilina-sulbactam	10/10 mcg	≤ 11		12-14	≥ 15
Cefazolina	30 mcg	≤ 14	15-17		≥ 18
Cefotaxima	30 mcg	≤ 14		15-22	≥ 23
Ceftriaxona	30 mcg	≤ 13		14-20	≥ 21
Cefalotina	30 mcg	≤ 14		15-17	≥ 18
Cloranfenicol	30 mcg	≤ 12	13-17		≥ 18
Ciprofloxacina	5 mcg	≤ 15		16-20	≥ 21
Clindamicina	2 mcg	≤ 14	15-20		≥ 21
Eritromicina	15 mcg	≤ 13	14-22		≥ 23
Gentamicina	10 mcg	≤ 12	13-14		≥ 15
Imipenem	10 mcg	≤ 13		14-15	≥ 16
Meticilina	5 mcg	≤ 9	10-13		≥ 14
Ofloxacilina	5 mcg	≤ 12		13-15	≥ 16
Oxacilina	1 mcg	≤ 17	11-12		≥ 13 ( <i>S. aureus</i> ) ≥ 18 (coagulasa negativo)
Penicilina G	10 U	≤ 28			≥ 29
Rifampicina	5 mcg	≤ 16	17-19		≥ 20
Tetraciclina	30 mcg	≤ 14	15-18		≥ 19
Trimetoprim-sulfametoxazol	1.25/23.75 mcg	≤ 10		11-15	≥ 16
Vancomicina	30 mcg				≥ 15

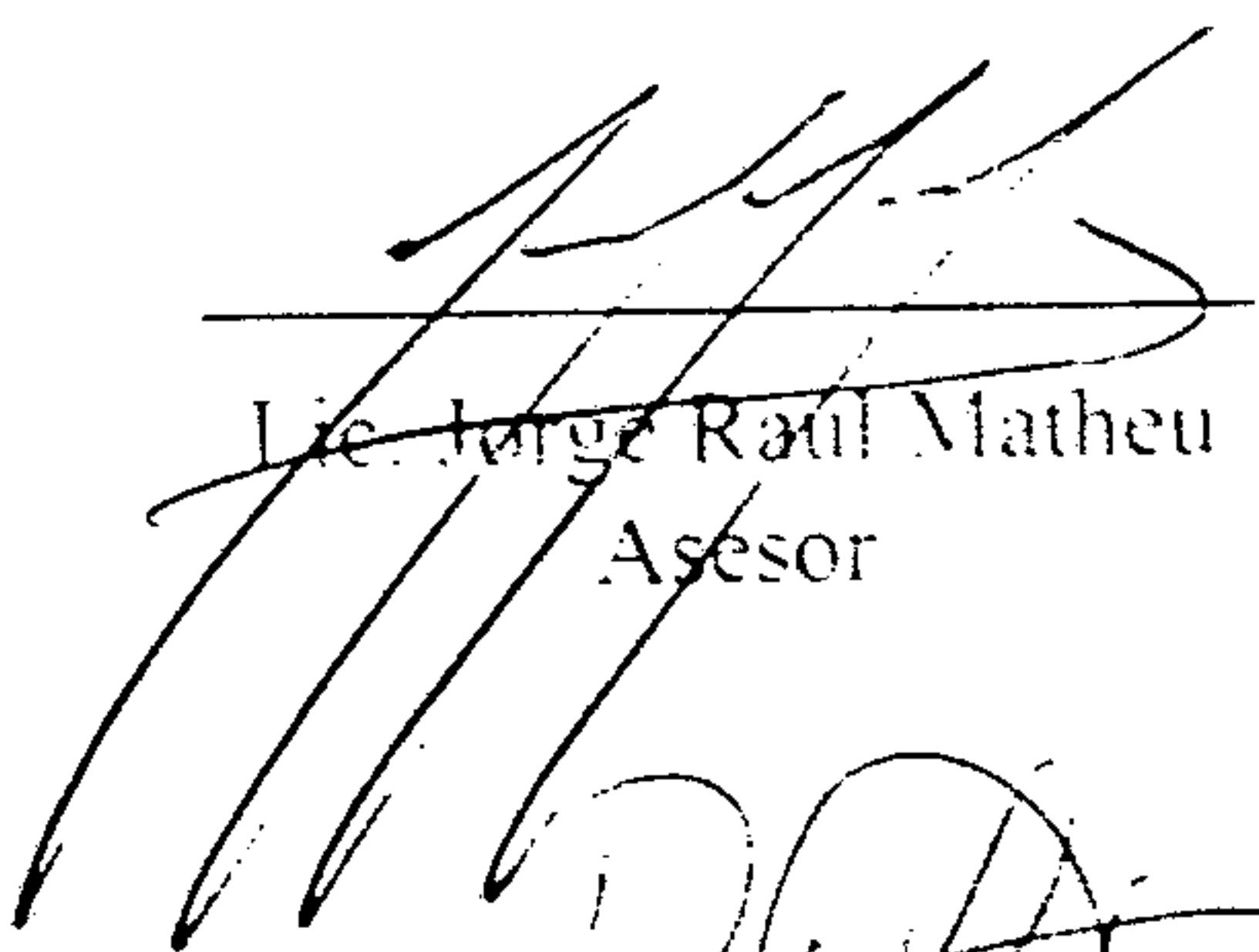
Tomado de: Wayne PA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS, Aprobado informational supplement Standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999. Villanova, Pennsylvania, U.S.A.





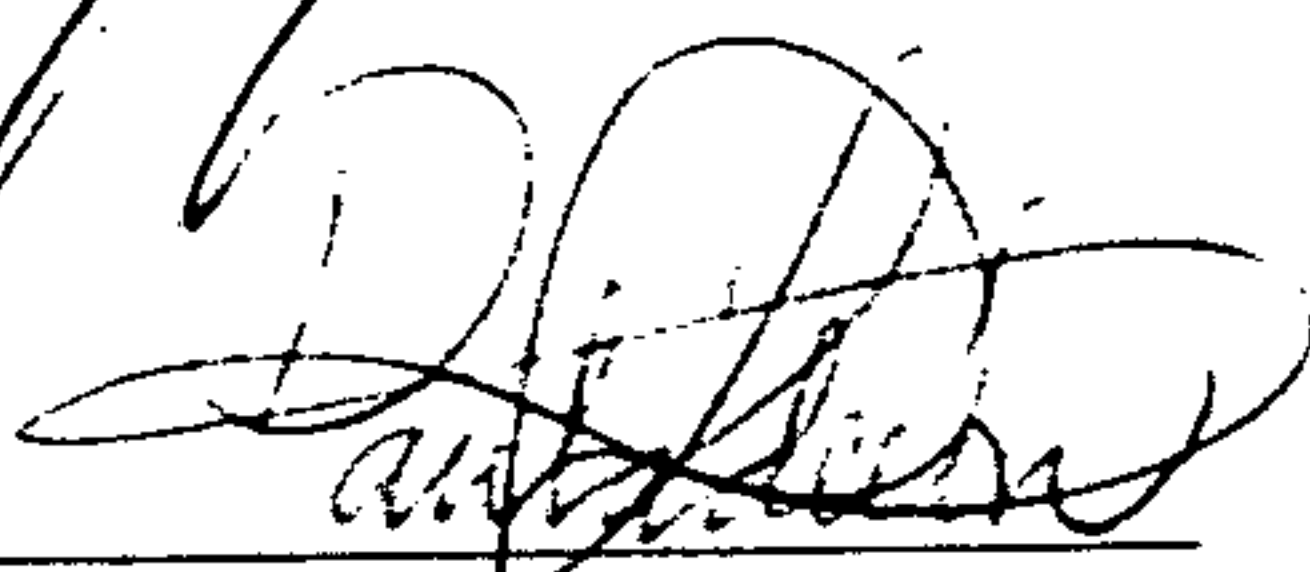
---

Claudia E. Aburey Calvo  
Autor



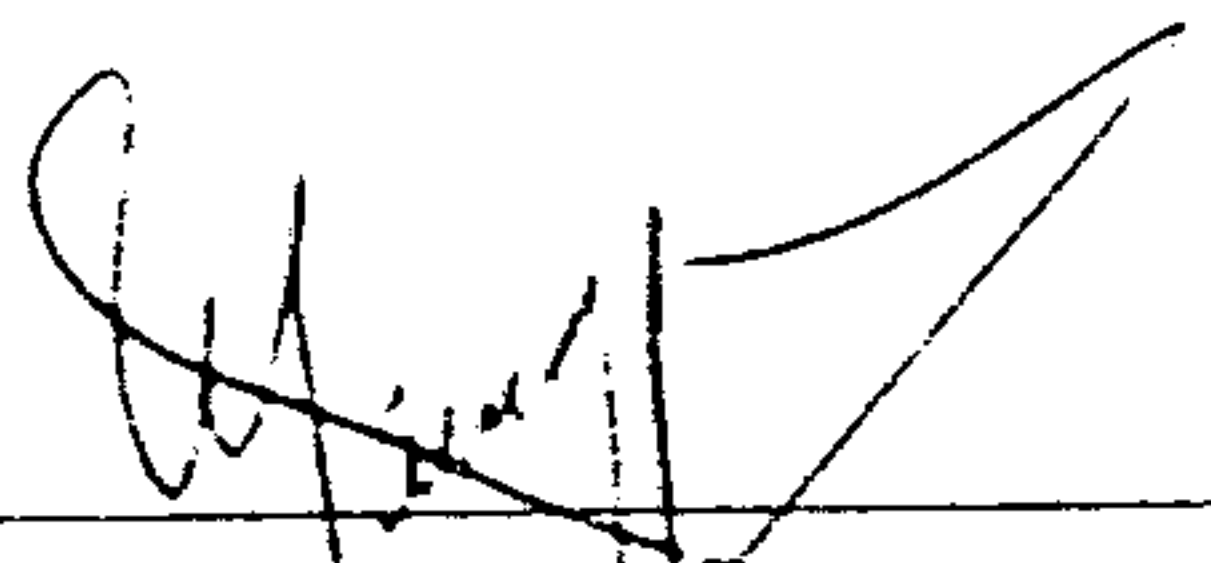
---

Lic. Jorge Raúl Matheu  
Asesor



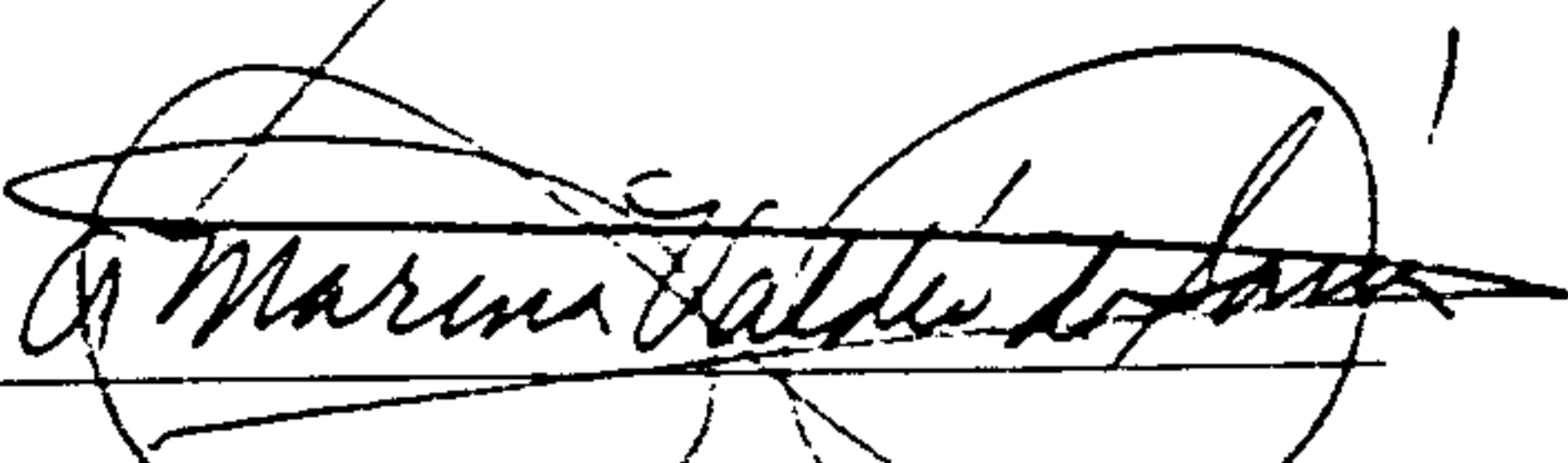
---

M.A. Maria Paula De León  
Revisora



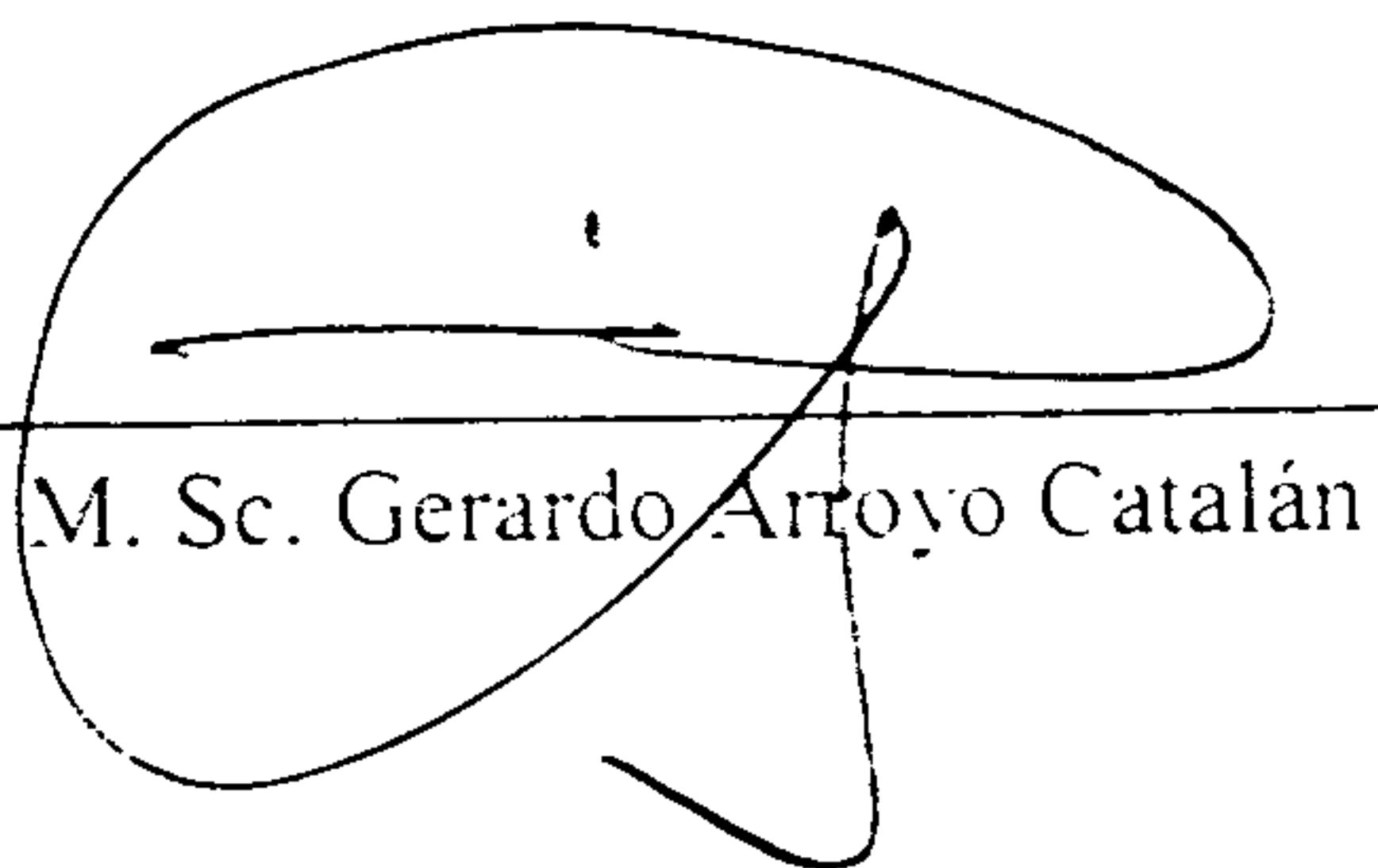
---

M.A. Maria Eugenia Paredes  
Revisora



---

Licda. Alba Marina Valdés de García  
Directora de Escuela



---

M. Sc. Gerardo Arroyo Catalán