

10

2 ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



U. N. A. M.

**DETERMINACION DE RESISTENCIA DE CEPAS
INTRA Y EXTRA-HOSPITALARIAS DE STAPHY
LOCOCCUS AUREUS A DICLOXACILINA.**

**(COMO PRINCIPAL ANTIBIOTICO Y A OTROS
ANTIMICROBIANOS)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LEONCIO BAUTISTA ROJAS

Director: Q. F. P. Vilma Zúñiga Tellería

Asesor Q. F. I. Andrea A. Becerril Oznaya

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E G E N E R A L

		PAG.
1.0	RESUMEN	I
2.0	INDICE DE CUADROS	IV
3.0	GLOSARIO	IV
4.0	INTRUDUCCION	1
5.0	<u>S. aureus</u>	1
5.1	SINDROMES CLINICOS	6
5.2	RESISTENCIA DE <u>S. aureus</u>	8
5.3	ANTIMICROBIANOS	13
5.4	SUSCEPTIBILIDAD DE <u>S. aureus</u> A LOS ANTIMICROBIANOS	16
5.5	REACCIONES ADVERSAS DE ANTIBIOTICOS	19
5.6	RIESGOS Y ABUSOS	20
5.7	CARACTERISTICAS DE ALGUNOS ANTIMICROBIANOS	22
5.8	DESTINO Y EXCRECION	25
6.0	JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	26
7.0	MATERIALES Y METODOS	28
7.1	TECNICAS	30
7.2	RESULTADOS	33
8.0	DISCUSION	39
9.0	CONCLUSIONES	41
10.0	BIBLIOGRAFIA	42

RESUMEN

El S. Aureus es un coco Gram positivo que es fácil de aislar en medios de cultivo primarios. Se encuentra frecuentemente en la piel, mucosa nasales del ser humano y en diversos productos alimenticios. Este microorganismo cuando infecta tejidos profundos, alcanza torrente sanguíneo produciendo septicemias e infecciones agudas en algunos órganos y huesos.

S. aureus produce diversas enzimas tóxicas y hemolíticas, además de ser un microorganismo que causa muchas infecciones intrahospitalarias por diferentes mecanismos. Hay que tomar en cuenta que el 30% de la población es portadora sana y son un foco de infección ambulante.

S. aureus desarrolla fácil resistencia a los antimicrobianos como se ha visto en otros países (E.U., Inglaterra, México, etc.) como sucedió en 1981 en el Hosp. de Pediatría de C.M.N., donde se produjo un brote de resistencia a dicloxacilina que era un antibiótico al cual casi no presentaba resistencia. También se ha detectado resistencia a Cefalosporinas.

Esta resistencia que ha ido aumentando en los S. aureus es debido al mal manejo y abuso de los antibióticos, provocando super infecciones difíciles de erradicar, aunque en estos casos se procede a realizar una prueba de sensibilidad y en algunas ocasiones aplicar 2 antimicrobianos juntos (que sean bactericidas) para potenciar su acción (sinergismo).

Con el aumento de la resistencia a los antimicrobianos se descubrieron técnicas de pruebas de sensibilidad para determinar su CMI y poder disminuir su resistencia. La técnica más confiable es la dilución en placa de Bauer Kirby.

Actualmente para evitar que siga aumentando la resistencia en hospitales y población se debe controlar el uso indiscriminado de antimicrobianos y no ser administrados en enfermedades leves como resfrío, torceduras, dolor de muelas, etc., ya que el mal uso provoca reacciones adversas (reacciones tóxicas, alérgicas y superinfecciones).

Como la resistencia de S. aureus ha ido aumentando tanto en la población como en los Hospitales, esto ha alarmado a los clínicos, principalmente - pediatras, prestando más atención a este problema.

Se realiza este trabajo en el que se probaron 10 antibióticos diferentes contra cepas de S. aureus utilizando una microtécnica en placa, además - de investigar qué porcentaje de cepas producían enzima B-lactamasa con la técnica de rojo de fenol. El estudio se realizó con 100 cepas de - - S. aureus aisladas en niños sanos (faríngeos) y en pacientes intra y ex trahospitalarios, las muestras de estos pacientes se obtuvieron de L.C.R. abscesos y hemocultivos.

A todos los S. aureus se les hizo las determinaciones necesarias para su identificación y se guardaron en refrigeración hasta que se trabajaron sus sensibilidades con la técnica de microdilución en placa para obtener su C.M.I. de cada antibiótico y posteriormente su C.M.B. A las 100 cepas se les hizo la técnica rojo de fenol para determinar cuales producían - - enzima beta-lactamasa. Con los resultados obtenidos se observó (Cuadro I) que la penicilina es el antibiótico al que presenta mayor resistencia

S. aureus (80%) y que dicloxacilina, Vancomicina, Clindamicina, Trimetoprim y Rifampicina son a los que presentan mayor sensibilidad a bajas - concentraciones (entre 2 y 4 mg.) y su eficacia es de 85.0 a 99.0%

En el cuadro II se observa que solo 3 antibióticos (Gentamicina, Amikacina y Clindamicina) tuvieron cambios de resistencia entre los niños sanos y los hospitalizados aunque en unos más que en otros.

En el cuadro III se observa que 9 antimicrobianos inhiben el crecimiento del 50% de las cepas a dosis bajas y que sólo 6 inhiben el 90% a concentraciones bajas.

El cuadro IV presenta el siguiente resultado: vemos que solo hubo cambios con dicloxacilina, cefotaxima y bactrim donde su C.M.B. fué una dilución más alta que la C.M.I.

Con este trabajo podemos tener un panorama del comportamiento de S. aureus y como ha ido aumentando su resistencia con el tiempo, a la vez que comprobar, mediante una técnica nueva, qué otros antimicrobianos podemos utilizar en el caso de que S. aureus se haga resistente a dicloxacilina.

INDICE DE CUADROS

FIG.	PAG.
1.- ESQUEMA DE TRABAJO	27
2.- CUADRO DE POR CIENTO ACUMULADO DE C.M.I.	35
3.- CUADRO DE POR CIENTO DE CEPAS RESISTENTES	36
4.- CUADRO DE C.M.I.s DEL 50% Y C.M.I.s. DEL 90%	37
5.- CUADRO DE CONCENTRACIONES DE C.M.B.S.	38

G L O S A R I O

S. aureus

PABA

CMN

C.M.I.

C.M.B.

Staplylococcus aureus

Acido paraaminobenzoico

Centro Médico Nacional

Concentración mínima inhibitoria

Concentración mínima bactericida

I N T R O D U C C I O N

Aspectos microbiológicos

La microbiología de Staphylococcus aureus está bien definida. El organismo es un miembro de la familia Micrococcacea, en la cual se incluyen dos géneros de mayor importancia clínica: Staphylococci y Micrococci.

El Staphylococci tiene tres especies de importancia médica, Staphylococcus aureus, S. epidermis y S. Saprophyticus . Aunque también se han aislado -- otras tres especies todas ellas coagulasa negativa, que son S. hominis, -- S. haemolyticus y S. simulands (2)

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

El término stafilococo deriva de las siguientes palabras griegas: "Staphyle" que significa racimo y "kokkos " que significan semillas que constituyen la raíz del término genérico. El estafilcoco fué observado por Koch en 1878, pero fué Ogston en 1881 quien por primera vez produjera abcesos experimentales demostrando su patogenicidad. El S. aureus es un coco - Gram positivo que mide 0.8 micras de diámetro, es inmóvil, no produce esporas, ni flagelos, ni cápsula (aunque hay sus excepciones), es aerobio y -- anaerobio facultativo. Se puede presentar aislado, en pares, en cadenas - cortas o racimos irregulares siendo esta última la forma más característica. (16).

Los S. aureus crecen en medios de cultivos primarios como agar tripticosa de soya y agar nutritivo, aunque desarrollan colonias más grandes en gelosa sangre. En su forma típica y aislamiento inicial, el microorganismo -- produce un pigmento amarillo dorado; sin embargo, esta característica es variable, ya que pueden verse colonias blancas o pálidas después del primer cultivo en el laboratorio y frecuentemente se han aislado en material clínico. Generalmente las colonias son opacas, circulares, lisas, de bordes enteros y consistencia cremosa (2), (16), (17). En gelosa sangre su actividad hemolítica es variable y aquí las cepas de S. aureus puede confundirse con colonias de estreptococos, pero pueden ser fácilmente diferenciados por la prueba de la catalasa; las blancas no pigmentadas de los estafilococos o micrococcos pueden confundirse con las levaduras en este medio o en los medios de cultivos primarios y éstas se deben de diferenciar microscópicamente. (17).

Los cultivos más viejos de S. aureus muestran tendencia a perder su facultad de conservar el cristal violeta y a retener la safranina cambiando su color azul por rojo, confundiéndose con microorganismos Gram-negativos. (2).

La mayor parte de las cepas de S. aureus fermentan el manitol y reducen el telurito libre, pueden tolerar concentraciones relativamente elevadas de sal (7.5% a 10%), como el medio 110, también crecen en medios de agar con alcohol feniletílico y son relativamente resistentes a la polimixina. Estas características favorecen su aislamiento de materias muy contaminadas, como las heces en las que existe una flora bacteriana abundante y variada. (2).

Con la fermentación del manitol se diferencia S. aureus de S. epidermidis. Otra diferencia entre ambos se encuentra en su pared celular. S. aureus presenta ligados el peptidoglican, ácido teicoico formados por ribitol 5 fosfato sustituido en C₁ con N acetil glucosamina alfa o beta (según la cepa); éstos últimos son determinantes de la especificidad inmunológica y actúan como sitios receptores de bacteriófagos. El S. epidermidis forma el ácido teicoico con polímeros de glicerol 3 - fosfato con glucosaminas sustituyentes en C₂. El S. saprophyticus se parece al S. epidermidis en casi todas sus propiedades pero se diferencia de éste por su resistencia a la novobiocina. (17)

Aunque una de las principales pruebas para diferenciar S. aureus de los otros estafilococos es la prueba de la coagulasa en tubo (que mide la coagulas libre) también se puede hacer la prueba de la coagulasa en portaobjetos (que mide la coagulasa unida) que es más rápida aunque menos precisa. Otra prueba de detección rápida para diferenciar el S. aureus de otras especies de estafilococos y micrococcos es la sensibilidad a la lisostafina, prueba de aglutinación del latex para detectar simultáneamente el factor de agrupación y la proteína A, técnicas serológicas para detectar ácidos teicoicos del S. aureus (CTE, difusión en gel y ELISA). Ya que el S. aureus ha sido diferenciado plenamente este puede clasificarse en varios grupos dependiendo de la técnica utilizada.

En un sistema de identificación de diversos estafilococos se utilizó también la actividad bacteriolítica. El sistema se basa en el empleo de 5 medios de prueba diferentes y también en la determinación de la actividad de la fosfatasa. (2)

Diversas cepas de S. aureus se han tipificado según los bacteriófagos que acepten y se han asignado con números arbitrarios para poder ser clasificados en 6 grupos serológicos (A, B, D, F, G, Y L), de acuerdo a -- esta clasificación muchas cepas de S. aureus son lisogénicos debido a los bacteriofagos temperados que cada capa porta en forma individual.

Este sistema se utiliza como un marcador epidemiológico para documentar el tipo de capa dominante en algún problema y actualmente se dispone de 22 fagos que constituyen el juego básico de fagotipificación. Se han agrupado en 4 grupos líticos de acuerdo con el patrón que presentan las diferentes cepas. (30,25)

Grupo 1 fagos tipos	29,52,52A, 79, 80
Grupo 2 fagos tipos	3A,3B, 3C, 55, 71
Grupo 3 fagos tipos	6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77 y 83A
Grupo 4 bacteriófagos tipo	42D
Varios fago tipo	81, 187

Los S. aureus se encuentran frecuentemente en piel, la mucosa nasal y otras membranas mucosas del ser humano y en diversos productos - alimeticios (2, 17).

El S. aureus está maravillosamente equipado como un patógeno que contiene una maquinaria bioquímica que lo habilita para colonizar rápidamente e invadir la menor zona de la piel y membranas mucosas y se -- protege él mismo contra muchas de las defensas del huésped. (por medio de su cápsula que es antifagocítica, adquiriendo resistencia por transducción, conjugación, etc.) (6).

Así frecuentemente alcanza el torrente sanguíneo y una vez llegado a sangre el microorganismo puede producir endocarditis bacteriana aguda y abscesos metastásicos, pudiendo causar por sobrecrecimiento o por producción de toxina shock endotóxico (6).

Las cepas de S. aureus aisladas de material humano pueden elaborar diversos metabolitos. Algunos de estos son tóxicos y revisten importancia patológica, mientras que otras no tienen toxicidad o es muy escasa, pero asumen significado diagnóstico. Los gérmenes patógenos humanos producen alfa y delta lisinas. Otras exotoxinas producidas por los estafilococos patógenos son la leucocidina que probablemente es igual a la delta lisina, una toxina dermonecrótica, una toxina letal, una toxina pirogénica, una exfoliatina y una enterotoxina. Únicamente las cepas de S. aureus que producen enterotoxinas provocan intoxicaciones alimentarias (37).

En la enterocolitis pseudomembranosa producen una toxina citopática que pueden diferenciarse de la producida por Clostridium difficile. Las alfa hemolisinas no provocan la lisis de los eritrocitos humanos, pero sí de los de la sangre de conejo y carnero. La delta lisina lisa los eritrocitos de caballo. La alfa hemolisina sirve como índice adecuado de la virulencia y por lo general se encuentra en un título elevado en caldos de cultivo virulentos (1). Dentro de las enzimas mencionadas producidas por los estafilococos se encuentran la fosfatasa, coagulasa, hialuronidasa, nucleasa, desoxirribonucleasa, estafiloquinasa o fibrinolisisina, lipasa, gelatinasa y proteasas, etc. La mayoría, si no todas, son antigénicas (14).

SINDROMES CLINICOS

Los S. aureus en el humano producen una gran variedad de enfermedades. Actúan invadiendo directamente por cualquier ruptura de la piel y de la membrana mucosa resultando en una amplia variedad de infecciones de tejido blando incluyendo celulitis, formación de abscesos locales (furúnculos o carbúnculos), linfagitis y linfadenitis, estas infecciones pueden extenderse directamente a estructuras más profundas, tales como huesos y uniones, provocando osteomielitis y artritis séptica y en casos más graves bacteremia, meningitis, endocarditis bacteriana, síndrome de shock séptico - (que es producido por cuatro diferentes mecanismos) (25,30,31)

- 1.- Síndrome de shock tóxico (producción de toxinas)
 - a) Gastroenteritis estafilocócica
 - b) Síndrome de shock tóxico
 - c) Síndrome de piel escaldada estafilocócica
- 2.- Shock cardiogénico (inhibición de la función cardíaca)
- 3.- Shock bacterémico
- 4.- Infección estafilocócica localizada

Además producen otros tipos de afecciones tales como promiicitis que es una enfermedad tropical y muy rara en México. (29)

Uno de los principales problemas causados por S. aureus son las infecciones dentro de los hospitales en pacientes postoperados o en pacientes en quienes se utilizan catéteres, sueros, etc. Este tipo de infecciones intrahospitalarias tienen diferentes orígenes que actualmente están clasificados en siete (20, 25, 40)

- 1.- Catéteres urinarios (20 a 95 %) por S. aureus
- 2.- Equipo contaminado (18 a 57 %)
- 3.- Dispositivos intravenosos (26 a 67 %)
- 4.- Fluido de paciente infectado o excretado (hepatitis, sida, etc.) (62 %)
- 5.- Soluciones contaminadas
- 6.- Transmisiones con las manos
- 7.- Autoinfecciones (infección endógena)

Todas las vías de infección han sido comprobadas en muchos hospitales mediante cultivos bacteriológicos de los dispositivos descritos, encontrándose que una gran parte de ellos están contaminados con S. aureus (2)

Esto puede evitarse implementando un control bacteriológico en el laboratorio clínico, tomando material al azar, sembrarlo en medios de cultivo para comprobar que estos dispositivos están estériles. Además el personal que maneja - pacientes debe lavarse las manos con agua y jabón antes y después de tocarlos (23).

Otro aspecto muy importante que no debemos pasar por alto dentro de las infecciones causadas por S. aureus es la del portador sano, ya que alrededor del 30% de las personas sanas son portadoras de esta bacteria en vías respiratorias altas como flora normal. Estos portadores son foco de infección en movimiento que puede contaminar a otras personas (41).

RESISTENCIA DE S. AUREUS

El S. aureus puede desarrollar resistencia a los antibióticos con sorprendente facilidad según se ha reportado en todo el mundo, este mismo fenómeno se ha presentado también en México. (39) Alrededor del 90% de las cepas de S. aureus hospitalarias son resistentes a penicilinas, dicha resistencia - está mediada por una beta-lactamasa o penicilinasasa. Es mucho menos común que los S. aureus desarrollen resistencia a la dicloxacilina, etc. (13, 30 y 35).

Sin embargo, en 1980 casi el 5% de las cepas de S. aureus aislados de infecciones hospitalarias eran resistentes a la dicloxacilina. En 1979 aproximadamente una tercera parte de los hospitales de los Estados Unidos de Norteamérica habían tenido problemas con este microorganismo. Este hecho se comprobó en estudios realizados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional (CMN) en 1981 se encontró un 5% de resistencia y en 1983 (33) 18.2%, por lo que hubo alarma entre los clínicos, ya que la dicloxacilina era el antibiótico de elección para S. aureus. Debido al alarmante aumento de la resistencia que ha adquirido en estos últimos años el S. aureus heteroresistente a los antimicrobianos debido al mal uso y abuso de éstos, particularmente el aumento de resistencia a dicloxacilina, los clínicos en conjunto con el laboratorio se preocuparon por realizar una investigación en la cual se probara la resistencia de S. aureus a diversos antibióticos tales como: Dicloxacilina, Penicilina, Gentamicina, Rifampicina, Vancomicina, Cefalotina, Clindamicina, Trimetoprim/sulfametoxazol (bactrim), Amikacina, Cefotaxima, con el fin de tener una alternativa a cepas resistentes a la Dicloxacilina. (4).

Hace pocos años se describió el fenómeno de la tolerancia del S. aureus a la actividad bacteriana de las drogas.

En general los antibióticos betalactámicos eran bactericidas para S. aureus en concentraciones iguales o próximas a las necesarias para su inhibición.

Sin embargo, en cepas tolerantes se necesita una cantidad considerablemente mayor de antimicrobiano. La concentración bactericida mínima (CBM) puede ser más de 100 veces mayor que la concentración mínima inhibitoria (CMI).

En muchos estudios se ha demostrado que una tercera o dos terceras partes de cepas de S. aureus muestran el fenómeno de tolerancia. No obstante los trabajos más recientes indican que todo cultivo de S. aureus puede contener algunas formas tolerantes. La proporción de estos microorganismos en cultivo va desde el 0.5% hasta el 50% con un término medio de 8.6%. Hasta el momento no hay evidencias clínicas que identifiquen que la tolerancia sea un fenómeno clínico importante (1).

Recientemente se ha comunicado un nuevo tipo de resistencia circuncrita a cefalosporinas que tienen una cadena lateral específica necesaria para absorción cuando se administra por vía bucal. No se conoce el potencial de patogenicidad de estas cepas de S. aureus. Se deben efectuar pruebas de susceptibilidad de los S. aureus a numerosos antibióticos mediante los métodos aceptados, tales como (difusión en gel, sensibilidad en disco, etc) (1)

Los microorganismos conforme fueron combatidos por antibióticos, adquirieron resistencia por siete diferentes mecanismos, los cuales son:

1.- Mediado por enzimas como beta-lactamasa.

Algunos microorganismos producen enzima beta-lactamasa que ataca al anillo beta-lactámico de la penicilina, produciendo ácido peniciloico que es inactivo. El ejemplo más común de estos son las cepas productoras de penicilinas de S. aureus.

2.- Por metabolismo

La estreptomycinina se liga a los ribosomas de los microorganismos sensibles causando la muerte celular al producir directrices geométricas - - aberrantes en la célula. La resistencia a la Eritromicina sucede cuando las células no captan la estreptomycinina, permitiendo así que continúe la síntesis normal de las proteínas en la célula.

3.- Inhibición del ac. paraaminobenzoico.

Como las sulfonamidas son análogas estructurales del ac. paraaminobenzoico. (PABA), estas primeras actúan bloqueando la síntesis de timidina y de todas las purinas, siendo la timidina necesaria.

4.- Por transmisión de la resistencia a las drogas.

El material genético del ácido desoxirribonucleico y del ribonucleico en ciertas circunstancias puede ser transferido de una célula bacteriana a otra y a los agentes involucrados se les conoce como factores R que son extracromosómicos y de estructura similar a los plásmidos (27).

5.- Por transformación.

Cuando esto ocurre se rompe la célula bacteriana y su material genético es recogido por otro microorganismo viable.

6.- Por transducción:

Esto ocurre cuando los virus que atacan a la célula bacteriana recogen material genético de la misma y conducen este material de una bacteria a otra.

7.- Por conjugación.

Esta es por contacto directo o por el apareamiento entre células cuyo material genético se pasa de una a otra. (7, 8 y 19).

De los mecanismos antes mencionados para la resistencia a los antibióticos, los que utiliza el S. aureus son:

- a) Mediado por enzima B-lactamasa
- b) Por transmisión de la resistencia a las drogas
- c) Por transducción.

Aunándose al problema de la resistencia de cepas de S. aureus está el problema de las infecciones graves, cuando los antibióticos no tienen la misma eficiencia contra éstas, entonces se recurre a la combinación de antimicrobianos para crear un sinergismo que exceda con mucho al puramente aditivo y así aumentar la eficacia de éstos. Existe una serie de combinaciones de estos antibióticos habiéndose comprobado su eficacia.

La ley de Jawest nos indica como combinar los antibióticos y señala lo siguiente:

Bacteriostático + Bacteriostático = Acción aditiva

Bacteriostático + Bactericida = Puede ser de acción antagónica

Bactericida + Bactericida = Puede ser de acción sinérgica

La sinergia puede definirse diciendo que en un antibiótico es activador potente de la acción de otro antibiótico cuando se administran juntos. Un ejemplo de ésto puede ser: Penicilina con Estreptomina. Se obtiene un efecto antagónico cuando un antibiótico retarda o evita la plena actividad del otro cuando se administran en forma combinada: Penicilina con tetraciclina, se obtiene un efecto aditivo cuando se administran - dos antibióticos bacteriostáticos y así aumenta la acción de estos. (21 32).

COMBINACIONES QUE MUESTRAN SINERGIA

Penicilina + Estreptomina

Cefaloridina o Cefalotina + Kanamicina o Gentamicina

Carbenicilina + Gentamicina

Colomicina + Sulfonamidas o Trimetropin

Los antibióticos deben saberse usar en el momento, la dosis y la vía de administración adecuada, si no se hiciera así no actuarían debidamente. (7)

ANTIMICROBIANOS

El concepto real de antibiótico comenzó con la introducción de los términos simbiosis y antibiosis. Cuando dos gérmenes asociados pueden ejercer influencia favorable uno sobre el otro se dice que hay simbiosis, en cambio si dicha asociación es desfavorable recibe el nombre de antibiosis y toda sustancia producida por un microorganismo en estas condiciones se denomina antibiótico. Aunque etimológicamente antibiótico es algo que produce la destrucción de la vida, cualquier agente mecánico, físico ó químico capaz de matar sería un antibiótico, pero este concepto no se toma mucho en cuenta (1). Alexander Fleming tiene el mérito de haber descubierto la penicilina - (en 1942) éste antibiótico desconocido por Fleming fué más tarde llamado penicilina, anunciando el advenimiento de la moderna era de los antimicrobianos. Más de una década transcurrió antes de que el descubrimiento de Fleming tuviera alguna aplicación práctica en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Paul Ehrlich después de muchos años de estudio sobre el efecto antibiótico de los colorantes de anilina, descubrió su " bola mágica " : el salvarsan que en 1912 fué la primera sustancia inyectable efectiva in vivo contra la espiroqueta de la sífilis. La investigación de la penicilina fué estimulada por el descubrimiento del prontosil por Domagk en 1932 que es un análogo químico de la sulfonamida. En 1935 fué descubierta la sulfonamida crisoidina, después surgiría el descubrimiento de la estreptomina. Conforme avanzó el tiempo - se siguieron descubriendo nuevos antibióticos para combatir las enfermedades y actualmente se sigue luchando para descubrir un antibiótico ideal. (17)

ANTIBIOTICO IDEAL

Este antibiótico está definido en varios pasos: (7, 19)

- 1.- Debe tener una acción antibacteriana selectiva y potente, de preferencia sobre un amplio número de microorganismos (amplio espectro)
- 2.- Debe ser bactericida y no bacteriostático, así su acción curativa es más rápida.
- 3.- Ha de ejercer su actividad antibacteriana en presencia de los líquidos del organismo, exudados y no ser destruido por las enzimas tisulares.
- 4.- No ha de perturbar las defensas del organismo y en las concentraciones necesarias para afectar al agente infeccioso no debe dañar a los leucocitos ni lesionar los tejidos del huésped.
- 5.- Debe tener un índice quimioterápico conveniente y aún a las dosis máximas requeridas durante periodos muy prolongados no debe producir reacciones adversas de importancia.
- 6.- El antibiótico no ha de producir fenómenos de sensibilización alérgica.
- 7.- No debe provocar el desarrollo de resistencia a los microorganismos susceptibles.

- 8.- Su absorción, distribución, destino y excreción deben ser tales que sea fácil conseguir rápidamente niveles bactericidas en la sangre, tejidos, líquidos tisulares, incluyendo el líquido cefalorraquídeo y la orina y que puedan mantenerse el tiempo necesario.
- 9.- Debe ser efectivo por todas las vías de administración.
- 10.- Debe poder fabricarse en grandes cantidades y a un precio razonable.

Aunque hasta la fecha no se ha descubierto el antibiótico ideal, a pesar de los esfuerzos realizados por los investigadores, en los últimos 20 años los antibióticos se han vuelto una parte aceptada de la medicina moderna. Desde el descubrimiento original de la penicilina por Fleming, se -- han descubierto numerosos antibióticos y se han aplicado en la clínica.

Para conservar su eficacia se requiere pleno conocimiento de todos los antibióticos que pueden emplearse en las infecciones bacterianas y por hongos, estos agentes se clasifican en varios grupos (7)

- 1.- Bactericidas
- 2.- Bacteriostáticos y fungistáticos
- 3.- De amplio espectro
- 4.- De espectro limitado
- 5.- Agentes específicos de acción local (ac. nalidixico y nitrofurantoina).
- 6.- Agentes de aplicación tópica (furamicetina)

Otra característica importante de los antibióticos es que pueden actuar sobre diferentes partes del microorganismo y en base a esto se clasifican en:

Grupo I .- Constituido por aquellos antibióticos que actúan sobre la pared celular, incluyendo las penicilinas, cefalosporinas (cefaloridina, cefalotina y cefaloxina).

Grupo II .- Son antibióticos que actúan sobre la membrana celular: polimixinas, colistin y anfotericina (hongos).

Grupo III .- Está compuesto por antibióticos que actúan sobre la síntesis de proteínas: tetraciclinas, cloramfenicol, estreptomycin, kanamicina y gentamicina.

Grupo IV.- Está formado por antibióticos que actúan sobre el ambiente bioquímico: sulfonamidas: trimetoprim e isoniazida (7, 8)

Fleming desarrolló el primer método para llevar a cabo pruebas de susceptibilidad a los antibióticos que fué la técnica de la placa de surcos (15).

SUSCEPTIBILIDAD DE S. AUREUS A LOS ANTIBIOTICOS

Las pruebas de susceptibilidad de los antimicrobianos fueron necesarias tan pronto como se volvieron comercialmente disponibles, por el mal manejo y por abuso de ellos en el tratamiento de cualquier enfermedad.

(15)

Antes de la segunda guerra mundial la producción de penicilina era limitada y sumamente costosa. Durante esta época fueron descubiertos varios antibióticos (estreptomina, gramicidina, tirocidina y cloro tetraciclina), estableciéndose los patrones de susceptibilidad contra diversos organismos. Si bien estos nuevos antibióticos fueron realmente drogas prodigiosas en el momento de su introducción en la práctica médica, no pasó mucho tiempo antes del surgimiento de cepas bacterianas resistentes, por lo que las pruebas de susceptibilidad se volvieron una necesidad práctica para guiar a los médicos en el uso apropiado de los antimicrobianos. (2).

La prueba de susceptibilidad por el método de dilución en caldo fue una de las primeras en ser desarrolladas y aún hoy sirve como método de referencia. Con el advenimiento de nuevos antibióticos en la década de 1940, los métodos de dilución en tubo dejaron de ser prácticos para cubrir el gran volumen de trabajo requerido (17).

En 1943 Foster y Woodruff comunicaron por primera vez el uso de las tiras de papel filtro impregnadas con antibióticos en la ejecución de pruebas de susceptibilidad. (16).
Vicent y Vicent introdujeron el uso del disco de papel en 1944, aumentando aún más la cantidad de antibióticos que se podían probar simultáneamente. Un año después Morely agregó otra variante demostrando que los discos de papel se podían secar luego de agregar la solución de antimicrobiano, obviando la necesidad de soluciones de reserva frescas disponibles cada vez que se debiera llevar a cabo una prueba.

En 1950 la necesidad de un método de estandarización para pruebas de susceptibilidad a los antibióticos llevó a la Organización Mundial de la Salud a deliberaciones que proporcionaron los principios fundamentales que condujeron al desarrollo de las técnicas de Anderson primero y de Bauer-Kirby después (1).

USO PROFILACTICO DE LOS ANTIBIOTICOS

Estos deben de emplearse en circunstancias especiales y no en forma indiscriminada como suele hacerse, ejemplo:

- 1.- En operaciones quirúrgicas serias en las zonas infectadas, en traumatismos graves que estén infectados: fractura expuesta, perforaciones de vísceras huecas y úlceras gastroduodenales perforadas.
- 2.- Prevención de infecciones secundarias en personas predispuestas por una enfermedad crónica: extracción dentaria en pacientes infectados con lesiones valvulares cardíacas reumáticas.
- 3.- Profilaxis de las exacerbaciones agudas en los casos de bronquitis crónica durante los meses de invierno y sobre todo si sobreviene un resfrió o gripe, procesos virales que se complican frecuentemente con infecciones broncopulmonares bacterianas. (19).

REACCIONES ADVERSAS DE LOS ANTIBIOTICOS

Uno de los peligros del uso indiscriminado de los antibióticos, tal como se practica en la actualidad, es la aparición de reacciones adversas que pueden ser graves. En general son de tres tipos:

- 1.- Reacciones tóxicas por ingestión excesiva de la droga
- 2.- Reacciones de sensibilización alérgica
- 3.- Infecciones sobreagregadas y superinfecciones.

- 1.- Toxicidad directa.- Las reacciones tóxicas por dosis excesivas son las más raras, ya que los antibióticos son drogas en general poco tóxicas. En este sentido la Estreptomicina y Kanamicina son importantes, pudiendo producir lesiones en el VIII par craneal, neurotoxicidad con sordera consecutiva y la nefrotoxicidad en el caso de la segunda.
- 2.- Sensibilización alérgica.- Las reacciones por sensibilización alérgica son comunes, especialmente en el caso de la penicilina con producción de erupciones cutáneas, accesos y aún shock anafiláctico, que puede ser mortal.
- 3.- Superinfecciones.- Es importante la producción de infecciones sobreagregadas o sea superinfección que se desarrolla por la supresión de gérmenes sensibles y el desarrollo excesivo de microorganismos resistentes a los antimicrobianos o bien de gér-

menes no susceptibles a ellos. Estos fenómenos se producen especialmente con la administración de antibióticos de amplio espectro, tetraciclinas que al suprimir la flora bacteriana normal de la boca, - fauces, vagina y colon, da lugar al desarrollo de S. aureus resistentes y hongos especialmente Candida albicans y otras levaduras no susceptibles a ellos (17)

Se produce pues un cambio de flora microbiana por eliminación de especies microbianas existentes, pero además existe otro mecanismo, a saber, la estimulación de crecimiento de los microorganismos causada por los mismos antimicrobianos en dosis subletales. Este fenómeno de nominado Hormesis puede explicar el predominio de una flora constituida especialmente por estafilococos en ciertos casos (19)

RIESGOS Y ABUSOS DE LOS ANTIBIOTICOS

En la actualidad el uso de los antibióticos se ha hecho muy generalizado y muchas veces se hace abuso de ellos. No debe olvidarse que la administración de dichas drogas no es completamente inocua este puede ser el caso no muy raro de muerte producida por shock anafiláctico provocado por la penicilina, que se empleó para un caso -- trivial y aún con indicaciones inadecuadas por resfrío, un dolor de muelas o la torcedura de un dedo del pié. (17)

Otro peligro del abuso de los antibióticos es el desarrollo de la resistencia bacteriana que cada vez se va extendiendo a distintos antimicrobianos y diferentes bacterias sobre todo en el ambiente hospitalario y que obliga al uso de nuevos antibióticos, que a su vez por abuso van generando resistencia (23).

Pero no está solamente en juego la salud del individuo sino también la de la comunidad; pues mientras más antimicrobianos se usan, menos útiles se vuelven, ya que la frecuencia de la resistencia bacteriana aumenta proporcionalmente. No deben suministrarse los mismos antibióticos para gérmenes y enfermedades en que son ineficaces, como son los virus; recuérdese también que es inútil administrar - - antimicrobianos sistémicos en presencia de colecciones purulentas - si no se efectúa el drenaje quirúrgico de los mismos. Una vez estudiado lo que es un antibiótico y sus propiedades aplicadas a la medicina se observarán algunas características.

(19, 28)

CARACTERISTICAS CLINICAS DE ALGUNOS ANTIMICROBIANOS

DICLOXACILINA SODICA (24)

Espectro antibacteriano	Limitado
Acción	Bactericida
Vía de administración	Intramuscular
Toxicidad	Hipersensibilidad de la penicilina
Derivado de	Penicilina semisintética
Soluble en	Buffer de fosfato pH-6.0

PENICILINA

Espectro antibacteriano	Amplio
Acción	Bactericida
Vía de administración	Intramuscular, IV, oral
Toxicidad	Hipersensibilidad alérgica
Derivado de	<u>Penicillium nonatum</u> , P. <u>Chysogenum</u>
Soluble en	Buffer de fosfatos Ph-8.0

CEFALOTINA SODICA

Espectro antibacteriano	Amplio
Acción	Bactericida
Vía de administración	Intravenosa
Toxicidad	Daño renal a altas dosis
Derivado de	<u>Cephalosporium</u>
Soluble en	Buffer de fosfatos pH-6.0

GENTAMICINA

Espectro antibacteriano	Amplio
Acción	Bactericida
Vía de administración	Intramuscular
Toxicidad	Altamente tóxica a concentraciones sanguíneas arriba de 10 mg/ml., causa daño vestibular
Derivado de	<u>Micronospora purpura, M. echinospora, M. sagamiensis</u>
Soluble en:	Buffer de fosfatos pH-8.0

AMIKACINA

Espectro antibacteriano	Ampio
Acción	Bactericida
Vía de administración	I.M., I.V. infusión
Toxicidad	Neurotóxico, Nefrotóxico, Alérgico
Derivado de:	Kanamicina A
Soluble en	Buffer de fosfatos pH-8.0

CLINDAMICINA

Espectro antibacteriano	Limitado
Acción	Bacteriostático
Vía de administración	I.M., I.V., oral
Toxicidad	Muy rara
Derivado de	Lincomicina
Soluble en	Agua

CEFOTOXIMA

Espectro antibacteriano	Amplio
Acción	Bactericida
Vía de administración	Oral, I.M.
Toxicidad	Náuseas, Vómito
Derivado de	Cefalosporina C.
Soluble en	Buffer de fosfatos pH=6.0

RIFAMPICINA

Espectro antibacteriano	Amplio
Acción	Bactericida
Vía de administración	Oral
Toxicidad	Reacciones cutáneas y posible toxicidad hepática
Derivado de	<u>Streptomyces mediterranei</u>
Soluble en	Buffer de fosfatos pH=8.0

VANCOMICINA

Espectro antibacteriano	Limitado
Acción	Bactericida
Vía de administración	Intravenosa
Toxicidad	Principalmente tromboflebitis y daño vestibular
Derivado de	<u>Streptomyces orientalis</u>
Soluble en	Agua

TRIMETOPRIM

Espectro antimicrobiano	Amplio
Acción	Bacteriostática
Vía de administración	I.M. I.V. oral
Toxicidad	Náuseas y cristaluria
Derivado de	Diaminopirimidinas
Soluble en	Metanol

SULFAMETOXAZOL

Espectro antimicrobiano	Amplio
Acción	Bacteriostático
Vía de administración	Oral, I.M.
Toxicidad	Náuseas, vómito y alergia
Derivado de	Sulfonamida
Soluble en	Metanol

DESTINO Y EXCRECION DE LOS ANTIBIOTICOS

La mayoría de los antimicrobianos siguen el mismo camino, ya que el ser administrados pasan al torrente sanguíneo e invaden todo el organismo hasta alcanzar el lugar de la infección (19).

La excreción de los antibióticos aquí estudiados es por la orina y en algunos casos también por bilis (19)

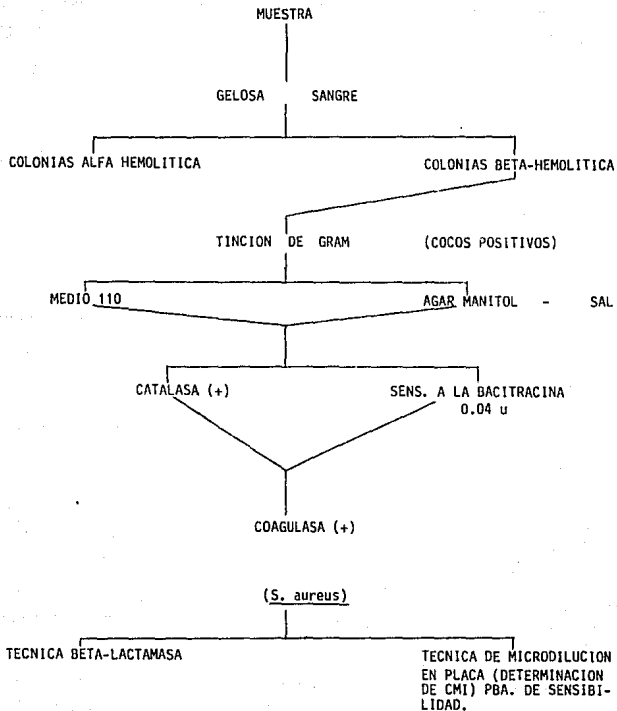
JUSTIFICACION

El trabajo se hizo con el fin de encontrar algunas alternativas para utilizar otro antibiótico diferente a dicloxacilina en caso de que S. aureus presentara resistencia y poderlo combatir en las infecciones intra y extrahospitalarias.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar la sensibilidad de S. aureus a 10 diferentes antimicrobianos incluyendo penicilina, con el fin de tener más opciones cuando el microorganismo adquiriera resistencia a algunos de los antibióticos y poderlo combatir en forma más eficaz.
- 2.- Observar en tres grupos de pacientes (sanos, intrahospitalarios, y comunitarios) en cual de ellos el S. aureus ha creado mayor resistencia a los 10 antimicrobianos estudiados.

ESQUEMA DE TRABAJO



MATERIAL Y METODOS

Se efectuaron 100 estudios bacteriológicos a tres grupos de individuos los cuales fueron ordenados de la siguiente manera:

- 1.- Muestras de exudados faríngeos de niños sanos y menores de 12 años que asistían a escuelas primarias del Distrito Federal y que no habían recibido antibióticos en 15 días anteriores a la toma de la muestra. En este grupo se incluyeron 60 muestras.

- 2.- Niños internados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional (CMN) a los que se les aisló S. aureus en diferentes productos biológicos (líquido cefaloraquídeo, abscesos y hemocultivos). En este grupo fueron 40 cepas las cuales se dividieron.
 - a) Infecciones adquiridas en la comunidad (14 niños)
 - b) Infecciones adquiridas en el hospital (26 niños)

CULTIVO BACTERIOLOGICO

Todas las muestras fueron sembradas en gelosa sangre y agar 110 para su primer aislamiento. Las cepas se identificaron como - S. aureus bajo los siguientes requisitos: morfología de las colonias, hemólisis beta en gelosa sangre, cocos gram positivos, catalasa positiva, coagulasa positiva, fermentación del manitol sens. a la bacitracina 0.04 ug. y prueba de beta lactamasa (5,11,14).

Después de su identificación todas las cepas fueron almacenadas en tubos con BHI que después fueron congelados hasta el momento de realizar las pruebas de sensibilidad (12).

Para realizar las pruebas de sensibilidad se utilizó la técnica de microdilución en placa con la cual se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias de Dicloxicilina, Penicilina, Gentamicina, Cafalotina, Amikacina, Cefotaxima, Trimetoprim/Sulfametoxazol (bactrim) Clíndamicina y Rifampicina. También se determinó la concentración mínima bactericida (CMB) (3). A las 100 cepas se les hizo la prueba de rojo de fenol para determinar cuantas de las cepas producian beta-lacta masa (2,3,10,17)

TECNICA DE MICRODILUCION EN PLACAS

A) PREPARACION DE LA CONCENTRACION INICIAL O CONCENTRACION MADRE.

Esta se llevó a cabo tomando en cuenta la potencia de cada antibiótico y la concentración de antimicrobiano, necesarias para obtener una cantidad de antimicrobiano que al diluirlo nos de tres concentraciones arriba del valor de corte y tres concentraciones abajo. Estas concentraciones las obtuvimos con la siguiente fórmula, ejemplo:

Cálculo para penicilina:

Potencia = 1680 g/mg
Concentración máxima = 32 mg
(para hacer las 3 diluciones)

$$\begin{array}{rcl} 1680 \text{ mg} & \text{-----} & 1 \text{ mg} \\ 32 \text{ mg} & \text{-----} & X = 0.0904 \text{ mg} \end{array}$$

Ahora dependiendo de la dilución que queremos hacer.

Diluirlo en 10 ml.

$$0.0904 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 0.904 \text{ mg}/10 \text{ ml}.$$

Por lo cual se pesaran 0.904 mg.

B) REACTIVOS

Disolver 3.69 g. de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 100 ml. de agua deionizada

Esta solución contiene 10 mg/ml de Ca^{++} . Estelizar por filtración y almacenar a 4° C

Caldo de Mueller-Hinton al 5% de NaCl

Para microdilución en placa se recomienda utilizar caldo de Mueller-Hinton suplementado con $\text{Ca}^{+} 50 \text{ mg/l}^*$ a un pH de 7.0-7.4 y Mg 25 mg/lt.

Adicionar 2% de Na Cl el medio, únicamente en los tubos o pozos donde se prueba penicilina, dicloxacilina, vancomicina, clindamicina, rifampicina y bactrim porque puede interferir con los aminoglucósidos y tetraciclinas.

Se utilizó medio de cultivo con inóculo de 18 a 24 horas diluido hasta obtener una concentración de 10^4 ó 10^5 de acuerdo al tubo No. 5 del nefelómetro de Mc. Farland.

C) TECNICA

Para cada antibiótico se hicieron tres diluciones ascendente y tres diluciones descendente del valor de corte. Entendiéndose como - valor de corte la concentración de antibiótico requerido en sangre para destruir o inhibir el crecimiento del 80% ó 90% de los microorganismos invasores.

Cada cepa probada se trabajó por columna poniendo un control negativo y un control positivo.

Cepas control de S. aureus ATCC 25923

- 1.- En una microplaca estéril con 96 pozos se les agregó a todos, 50 ul de caldo de Mueller-Hinton con Ca^{2+} y Mg^{2+} .
- 2.- Al primer pozo se le agregó 50 ul de solución del antibiótico a la concentración requerida. (3, 17)
- 3.- Al segundo pozo se le agregó 50 ul del antibiótico, mezclar con un microdilutor de 50 ul y de este pozo pasar 50 ul de solución diluída al pozo tres de la columna y así sucesivamente has ta el pozo ocho del cual se desechan 50 ul.
- 4.- A partir del segundo pozo se les agrega 50 ul de suspensión de bacterias hasta el último pozo.
- 5.- Incubar de 18 a 24 horas a 30° - 35° C
- 6.- Observar y anotar resultados
- 7.- Incubar otras 24 horas de 30° 35°C
- 8.- Observar y anotar resultados (CMI) de cada antibiótico

Se definió como CMI la menor concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento de los microorganismos.

En medio de Hinto Muller se sembró una asada de los cuatro pozos mayo res a la CMI para determinar su CMB, estos cultivos se incubaron de 18 a 24 horas de 30° C a 35°C. Entendiéndose como CMB la máxima dilu ción de antibiótico que no produce desarrollo visible.

TECNICA DE ROJO DE FENOL.

A) Reactivo.- Reconstituir un vial con 100,000 U. de penicilina G. pó-
tasica con 4.5 ml. de agua destilada y agregar .5ml de solución acuosa
de rojo de fenol al 0.5% y agregar NaOH1M hasta un pH-8.5

B) Suspensión de la bacteria.- Un inculo suficiente + 1.5 ml. de --
NaCl esteril(la turbidez debe ser equivalente, al tubo No. 5 del Nefe-
lometro de Mc. Farland).

C) Técnica.- Poner 3 gotas de reactivo fresco a .5ml de suspensión
de bacterias y mezclar lentamente. Si el cambio de coloración es de vio-
leta a amarillo intenso dentro del primer minuto, la prueba se conside-
ra positiva, si permanece sin cambio es negativa.

Se usan dos controles, uno positivo y otro negativo.

Control Negativo.- Solo tiene .5 ml. de sol. salina, más 3 gotas de
reactivo.

Control Positivo.- Contiene .5ml. de sol. salina y una gota de solu-
ción de penicilinas con 400,000 u/ml. más 3 gotas de reactivo.

NOTA: Si el cambio de color es de violeta a rojo o rosa palido se in-
terpreta como negativa. La prueba negativa en un minuto permanece así,
durante 10 hrs. si después de este tiempo vira a color amarillo es de-
bido a hidrolisis de la penicilina y es negativa.

D) Resultados: Al hacerse el estudio para la dilución de enzima beta-
lactamosa en las cien cepas se obtuvo el siguiente resultado:
el 84% de las cepas serán productoras de esta enzima.

D) RESULTADOS

Se determinó la CMI y la CMB de 100 cepas de S. aureus a dicloxacilina, Penicilina, Gentamicina, Vancomicina, Cefotaxima, Clindamicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol (bactrim) Amikacina y Rifampicina y sus resultados se observaron en los cuadros I, II, III, IV. se tomaron como valores resistentes todas aquellas concentraciones que rebasaron el valor de corte de cada antibiótico, obtenidos con la técnica utilizada.

En el cuadro I (porcentaje acumulado en 100 cepas según la - - CMI). Se puede observar que la penicilina es el único de los 10 antibióticos que es menos eficaz contra S. aureus ya que con 1 mg. de conc. (que es su valor de corte) solo el 18% de las cepas son sensibles a éste y el 82% son resistentes. Los antibióticos que mejor funcionan por su eficacia son: Dicloxacilina, Vancomicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol y Rifampicina, los cuales a concentraciones entre 0.5 y 4.0 mg. inhiben más del 85% de las cepas de S. aureus (Hay otros antibióticos que también son efectivos contra S. aureus pero requieren mayor concentración como es el caso de gentamicina, clindamicina y amikacina que requieren concentraciones entre 8.0 y 16.0 mg. Solo inhiben el crecimiento de los S. aureus en bajas concentraciones (2.0 a 4.0), cefalotina y cefotaxima, pero en éstos se ha visto que " in vivo " no son tan eficaces como " in vitro " por lo cual no son muy confiables.

En el cuadro II se observa el porcentaje de cepas resistentes entre tres grupos diferentes. Como se observa en la tabla no hubo cambio muy marcado entre un grupo y otro los únicos antibióticos que marcaron un poco de diferencia entre los tres grupos fueron la amika-

cina y gentamicina. Con amikacina en los niños sanos solo hubo 13.3% de resistencia, pero en el grupo de infecciones intrahospitalarias hubo un 25.9% de resistencia y en el grupo comunitario 21.9%. Para gentamicina en el grupo de los niños sanos dió un 21.6% de resistencia y para los grupos intra y comunitaria dió de 34.6% y 28.5% respectivamente. En este cuadro podemos ver que en los niños del grupo control de las cepas son más sensibles que en los otros dos grupos, - siendo el de infecciones intrahospitalarias el que ofrece mayor resistencia.

En el cuadro III obtenemos la CMI_{50} y CMI_{90} para poder comparar las concentraciones con las otras tablas y así poder elegir el antibiótico más efectivo y a que concentración es más eficaz para el 50% ó 90% de las cepas. Como en el caso de dicloxacilina que a 2.0 mg. es capaz de inhibir el crecimiento del 90% de las cepas o el caso del bactrim y rifampicina que a 0.5 mg. inhiben el crecimiento del 90% de las cepas. También se pudo observar que 8 antibióticos inhiben el crecimiento del 50% de cepas a una concentración menor de su valor de corte y solo 6 antibióticos como dicloxacilina, vancomicina, cefalotina, cefotaxima, bactrim y rifampicina, inhiben el crecimiento del 90% de las cepas a una concentración menor de su valor de corte.

Se puede observar que la CMB en casi todos los antimicrobianos se comporta sin ningún cambio excepto en la dicloxacilina, cefotaxima y que requirieron una concentración (dilución) más alta que la CMI dando para cada antibiótico 4.0 mg/ml 8.0 mg/ml respectivamente y la penicilina que en altas concentraciones hubo crecimiento siendo su CMB muy alta (Cuadro IV).

Los resultados obtenidos con la técnica de Rojo de Fenol fueron de 84% de cepas productoras de enzima beta lactamasa.

SENSIBILIDAD DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

PORCENTAJES ACUMULADOS

CUADRO I

ANTIMICROBIANOS		VALOR DE =	0.125	0.125	0.250	0.500	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	-256	512
		CORTE														
DICLOXACILINA	8 mg/ml						82	99	99	99	99	99	99	99	100	
PENICILINA	1 mg/ml		8	14	18	20	44	59	100							
GENTAMICINA	4 mg/ml					4	13	33	74	79	89	95	100			
VANCOMICINA	4 mg/ml				98	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
CEFALOTINA	32 mg/ml							97	98	99	99	99	99	99	100	
AMIKACINA	16 mg/ml							44	52	61	77	83	93	100		
CEFOTAXIMA	32 mg/ml							37	90	98	98	99	99	99	100	
CLINDAMICINA	4 mg/ml			57	62	66	74	85	94	94	95	100				
TMT/SMZ	32 mg/ml								95	96	97	99	100	100	100	
RIFAMPICINA	4 mg/ml				99	99	99	99	99	100	100					

VALOR DE CORTE

Se tomaron como sensible todas aquellas concentraciones menores al valor de corte
 Se tomaron como resistentes todas aquellas concentraciones mayores al valor de corte

PORCENTAJE DE RESISTENCIA DE ACUERDO AL ORIGEN DE AISLAMIENTO DE S. aureus

CUADRO II

ANTIMICROBIANOS	VALOR DE CORTE U/ML.	% DE CEPAS RESISTENTES		
		NINOS SANOS (60)	INTRAHOSPITALARIOS (26)	COMUNITARIOS (14)
DICLOXACILINA	8	0	3.9	0
PENICILINA	1	80.0	84.6	85.6
GENTAMICINA	4	21.6	34.6	28.5
VANCOMICINA	4	0	3.9	0
CEFALOTINA	32	0	3.9	0
AMIKACINA	16	13.3	26.9	21.9
CEFOTAXIMA	32	0	0	7.1
CLINDAMICINA	4	16.6	15.3	7.1
TMT/SMZ	32	0	0	0
REFAMPICINA	4	0	3.9	0

CUADRO III

CMI DE 50% Y CMI 90% DE 100 CEPAS DE S. aureus

ANTIMICROBIANO	VALOR DE CORTE MG/ML	CMI 50 U/ML	CMI 90 U/ML
DICLOXACILINA	8	< 1	< 2.0
PENICILINA	1	8.0	< 16.0
GENTAMICINA	4	< 8.0	< 64.0
VANCOMICINA	4	< .5	< .5
CEFALOTINA	32	2.0	< 2.0
AMIKACINA	16	< 4.0	< 64.0
CEFOTAXIMA	32	< 4.0	4.0
CLINDAMICINA	4	< 0.5	< 8.0
TMT/SMZ	32	< 0.5	< 4.0
REFAMPICINA	4	< 0.5	< 1.0

CONCENTRACION BACTERICIDA DE 100 CEPAS DE S. aureus

CUADRO IV

ANTIBIOTICO	VALOR DE CORTE	CMB 90
DICLOXACILINA	8	4.0 mg/ml
VANCOMICINA	4	0.5 mg/ml
CEFALOTINA	32	4.0 mg/ml
AMIKACINA	16	16.0 mg/ml
CEFOTAXIMA	32	8.0 mg/ml
CLINDAMICINA	4	8.0 mg/ml
GENTAMICINA	4	64.0 mg/ml
RIFAMPICINA	4	0.5 mg/ml
TMP/SMZ (BACTRIM)	32	4.0 mg/ml
PENICILINA	1	8.0 mg/ml

DISCUSION

En el presente trabajo se llevó a cabo el estudio de sensibilidad de S. aureus a 10 diferentes antimicrobianos utilizando la técnica de microdilución en placa siendo una técnica poco usual, pero que -- sus resultados son confiables, además de que se requiere pequeña cantidad de muestras y antimicrobiano, y que económicamente la hace más accesible para cualquier laboratorio, aunque esta técnica no es utilizada -- como de referencia.

Este estudio se dividió en tres grupos de pacientes (sanos, intrahospitalarios y comunitarios), observándose que de los tres grupos de pacientes, el grupo de niños sanos adquirió resistencia a la penicilina, gentamicina, amikacina y clindamicina, siendo la penicilina la de mayor resistencia (80%). En los otros dos grupos la resistencia a los antimicrobianos mencionados, también existe un mayor porcentaje de resistencia.

En E.U. y Europa la resistencia de S. aureus es a la penicilina, dicloxacilina, gentamicina, eritromicina y rifampicina presentan valores semejantes a los obtenidos en este estudio (3).

También se observó que S. aureus es sensible a la mayoría de los antibióticos aunque a unos con mayor eficacia que a otros como en dicloxacilina, vancomicina, bactrim y rafimpicina que nos dan un 99% de sensibilidad mientras que gentamicina, amikacina y clindamicina nos dan sensibilidades entre 74% y 85%, pero también observamos que la penicilina es el antibiótico menos eficaz contra S. aureus ya que este --

microorganismo ofrece un 84% de resistencia. Viendo estos mismos antibióticos en un cuadro cuyas CMI's de 50% y 90%, observamos -- que de los 10 antibióticos solo 8 inhiben el crecimiento del 50% de las cepas abajo de su valor de corte, mientras que 6 antibióticos inhiben el 90% de las cepas debajo de su valor de corte.

Otra observación fué que la CMB de los antibióticos daba abajo o igual a la CMI, solo en 2 antimicrobianos pudimos observar la CMB una concentración (dilución) más alta que la CMI dándonos - para dicloxacilina 4.0 mg/ml. cefotaxima 8.0 mg/ml.

La detección de la enzima beta lactamasa nos dió un 84% de positividad en las 100 cepas estudiadas con lo que se comprobó que los S. aureus es altamente resistente en sus múltiples infecciones en los Hospitales.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

1.- En México al igual que en otras partes del mundo la resistencia de S. aureus a las bencilpenicilinas ha aumentado progresivamente hasta niveles que invalidan el uso de estos antimicrobianos en el tratamiento de las infecciones producidas por este germen.

2.- Las cepas de S. aureus de procedencia intrahospitalaria y comunitaria no muestran diferencia en la resistencia a la mayoría de los antibióticos aquí estudiados excepto en clindamicina, gentamicina, amikacina y penicilina, en los que hay mayor resistencia - en intrahospitalarias que en comunitarias.

3.- Las isoxasillipencilinas, son por el momento los antibióticos de primera elección para todo tipo de infecciones causadas por S. aureus productor de beta-lactamasa, ya sea de origen intrahospitalario o comunitario.

4.- En caso de alergia demostrada a penicilinas y dependiendo de la gravedad del proceso infeccioso causado por S. aureus, se puede emplear gentamicina, amikacina, clindamicina, bactrim, cefalosporinas, rifampicina y vancomicina, tomando en cuenta que S. aureus desarrolla fácilmente resistencia a las cefalosporinas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Dr. Allende M.J.G. y Dr. Peredo L.V.M.A., Riesgo de Infección Intrahospitalaria por uso de catéteres intravenosos; *Infectología* 1983 AIII, No. 8 pag. 379, 387.
- 2.- Bailey-Scott. Diagnóstico microbiológico, Editorial Médico-Panamericana 1982 pag. 151-158; 514-532.
- 3.- Balows, Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos (técnicas). Editorial Médico-Panamericana 1976: 71-83
- 4.- Boletín Informativo No. 8 Comité de Control de Antimicrobianos Hospital de Pediatría, C. M. N. 1982.
- 5.- Boughton W. H. Rapid. Detection in. Spiral Fluid of Beta-Lactamase produced by ampicillin-Resistant Haemophilus-influenza. *Journal of Clinical Microbiology*. 1988: 1167-1168.
- 6.- Bruda A.I. Microbiología Clínica, Editorial Panamericana, 1989, pag. 313-320.
- 7.- Bryant M. C. Antibióticos y su control mediante el Laboratorio, Editorial el Manual Moderno, S.A., 1976: pag. 13-65
- 8.- Calderón J. E. Aplicación clínica en antibióticos y quimioterápicos, Editorial Centeotl, 1981; pag. 29-38, 66,2118.
- 9.- Cowan S.T. y Steel K. J. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge at the University Press. 195; pag. 53-54.
- 10.- Dildon K. L. and Howe E.S., Early detection of Oxocillin-resistant staphylococcal strain with hipertonic broth diluent for microdilution panels.
- 11.- Escamilla J. Susceptibility of haemophilus influenza to ampicillin as determined by use of a modified, one-minute beta-lactamase test.
- 12.- Faddín. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Panamericana 1980: 50 - 58

- 13.- Horton A.K., Jwennings B.R. and Baselski S.V. (B-lactamase testing of Staphylococci in a comercial broth microditution minimum inhibitory concentration sistem. Jornal of Clinical Microbiology, Aug. 192 16 (2) pag. 406 - 407
- 14.- Pinto M.V. y J.C. E. Infecciones estafilococicas: nuevos conceptos, nuevos síndromes, Infectología. Nov-Dic. 1982 II (11/12): pag. 691-710
- 15.- Jawetz E. Milnick L.J. y Adelberg A.E.. Microbiología Médica. Editorial Manual Moderno 6a. Edición 1975, pag. 198-202
- 16.- Koneman W. Elmer, Allen D. Stephen, Dowell R. V. y Sommers, M. Hebert Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamerica 1983, pag. 291-300 y 380-401
- 17.- Lich T. J. Lt. Cmdr. Penicillinase-Resistant, penicillin-gentamicin, synergism. Arch Intern. Med. VII Oct. 1979. Vol. 134; pag. 1094-1098
- 18.- Litter M. Farmacología, Editorial Ateneo, 5a. edición 1975, pag. 1510-1592.
- 19.- Matsen M. John, MD. The sources of Hospital infection. Medicin 1975, Vol. 52 (4) pag. 271-277.
- 20.- Murray W. Henry M.D.; Wigley M. Fredick MD; Mann J. John MD. and Arthur R.R. Combination antibiotic therapy in Staphylocacal endocarditis. Arch in Term. Med. 1976, vol. 136; pag. 480-483.
- 21.- Maldonado A. S., Jorge Dr. y Verarde L P M A Riesgo de infección inhospitalaria por el uso de catéteres intravenosos Infectología 1983, 8 pag. 379-387.
- 22.- Markowitz N. Pohlod D. Saravolat L. In vitro susceptibility patterns of methicillin resistan and susceptible Staphylococcus aureus Strains in a population of parenteral drug obuser of 1972 to 1981. Antimicrob. Agents Chemother 1983. 23: 450-457
- 23.- Mendel D, B. Manual de Terapeútica, antimicrobiana. Editorial Panamericana; Edición 1992 -12-40
- 24.- Nordbring F. Is dicloxacillin nephrotoxi, Acta Ortp Scend 1984, 55: 405-406

- 25.- Pinto M.V. y J.C. E. Infecciones estafilococicas nuevos conceptos, nuevos síndromes. infectología 1982. 11, 691-710
- 26.- Parher T.M. H. Elizabeth A. J.H.H. Ls Nakhala and Brenda MB. Endemic Staphylococcal infection in hospitals. Anuals New York Academy of Science 1973; 8: 466-484
- 27.- R.B.L. May J.W.S. R.A. Analysis of plasmids in nosocomial strains of multiple antibiotic - resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob. Agen-tes Chemother 1983, 23: 817-826
- 28.- Reiner R. Antibiotics And Introduction. Editorial Georg Threme Verlay. 1982 pag. 95-140.
- 29.- Sande A.M. and Kip B.C. Nafcillin-Gentamicina Synergism in Experimental Staphylococcal Endocarditis. J. Lab. Clin. Med. July 1976. 118-124
- 30.- Saravolatz D.L., M.D. Norman M., MD. Lucille A., BSN Donald Pohlod, M.A. and Evelyn Fisher M.D. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Annals of Internal Medicina 1982., 96: 11-16.
- 31.- Sheagren N.J., MD. Staphylococcus aureus (the persisten pathogen. The new England Journal of Medicine. May. 31.1984.310 (21); 1368-1373
- 32.- Sheagren N.J., MD. Staphylococcus aureus (the persisten pathogen. The new England Journal of Medicine. May 31.1984 310 (22); 1437-1442.
- 33.- Sramarelluv H., Papapetropoulou M. and Karkos R.G. Mathicillin resistant Staphylococcus aureus infections during 1978-1979, Clinical in Bacterio-logic observations. Journal of Antimicrobial Chamotherapy 1981; 7: 649-655.
- 34.- Stergbigel T. Roy, Ricard L. Greenman, and Jack S.R. Antibiotic comina-tions in the treatment of experimental Staphylococcus aures infection. The Journal of Infections diseases. March 1975. 131 (3): 245-251
- 35.- Trejo P.J.A., Gerardo O. O., Martha García P. Hector G. G., Juan G.E. y Onofre M. H. Susceptibilidad de Staphylococcus aureus a la penici-lina dicloxacilina, gentamicina, eritromicina y rifampicina. Bol. Med. Hosp. Infantil, México, nov-dic. 1981, 38 (6); 873-880
- 36.- Thornsberry C. Methicillin - Resistant (hetero-resistant) Staphylococci The antimicrobic Newsletter. Jun. 1984. 1 (6); 42-47

- 37.- Thornsberry C. and Linda K. Mc. Dougal. Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (hetero-resistant) staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology* Nov. 1983. 1084-1091.
- 38.- Told K.J., MD. Staphylococcal toxin syndromes *Ann. Rev. Med.* 1985 36: 337-347
- 39.- Veraldo P.E., Debbia and G-C Shito. In vitro effects of vancomycin and rifampicin, alone and in combination against methicillin-sensitive and methicillin resistant staphylococci. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* Dec. 1984- 14; 35-41.
- 40.- Wredemann B. and M. Kuesken. The recidence and Development of resistance in *Staphylococcus aureus* from three European Countries. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* Dec. 1984. 14: 27-34
- 41.- Wise I. R. Modern Management of severe staphylococcal disease. *Medicine* 1973. 52 (4): 295-304
- 42.- Zierdt H.C. Long-Term *Staphylococcus aureus* Carrier State in Hospital Patients. *Journal of Clinical Microbiology.* Sept. 1982 16 (3); 517-520