

11262  
3  
2y



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INCIDENCIAS, FACTORES DE RIESGO, CARACTERISTICAS  
CLINICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA INFECCION  
CAUSADA POR ESTAFILOCOCO RESISTENTE A METI-  
CILINA, EN UNA INSTITUCION DE TERCER NIVEL DE  
ATENCIÓN MÉDICA

TESIS CON  
FALLA LE ORIGIN

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :  
**Maestra en Ciencias Médicas**

P R E S E N T A

**ELENA URDEZ HERNANDEZ**

Tutor : Dr. José Sifuentes Osorio

Co-Tutor : Dr. Juan José Calva Mercado

Departamento de Infectología  
Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán

1991



## **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

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCION	3
4. HIPOTESIS	12
5. OBJETIVOS	13
6. METODOS, SUJETOS Y MATERIALES	14
7. RESULTADOS	22
8. DISCUSION	36
9. CONCLUSIONES	43
10. REFERENCIAS	45
11. APENDICES	53

## 1. RESUMEN

1.1 PROPOSITO: Determinar la incidencia de infecciones nosocomiales causadas por estafilococo resistente a meticilina (ERM), los factores de riesgo asociados y las características de los gérmenes infectantes.

1.2 DISEÑO: Estudio prolectivo de casos y controles.

1.3 SITIO: Hospital de tercer nivel de atención médica.

1.4 PACIENTES: Se incluyeron 46 pacientes hospitalizados infectados por estafilococo resistente a meticilina (casos) y 86 por estafilococo sensible (controles), incidentes en un periodo de 18 meses (junio de 1989 a noviembre de 1990).

1.5 METODOS, MEDICIONES Y RESULTADOS PRINCIPALES: Se entrevistó a los enfermos para indagar factores de riesgo y manifestaciones clínicas. La susceptibilidad antimicrobiana de los gérmenes aislados se determinó por microdilución. Se consideró resistencia a meticilina una concentración mínima inhibitoria  $\geq 8$   $\mu\text{g/ml}$ . Se investigaron otras características biológicas del microorganismo como: el fenotipo de resistencia a meticilina, hemólisis sinergista y producción de limo (slime).

La incidencia de infecciones nosocomiales causadas por estafilococo resistente a meticilina fue de 1.05/100 egresos. Las variables que se identificaron, por regresión logística múltiple, como factores de riesgo para infectarse por ERM fueron: adquisición nosocomial de la infección (RM=7,  $p=0.005$ ); administración prolongada de antimicrobianos antes de la infección (RM=1.84/semana,  $p=0.013$ ); que fuera infección de vías urinarias (RM=12,  $p<0.001$ ); que fuese infección asociada a catéter IV (RM=4.4,  $p=0.009$ ); que el organismo infectante fuera productor de hemólisis sinergista (RM=5.5,  $p=0.002$ ) y de limo (RM=8.3,  $p=0.001$ ). *S.epidermidis* (42%) y *S. haemolyticus* (25%) fueron las especies de ERM predominantes. El fenotipo heterogéneo de RM se observó en el 62%.

1.6 CONCLUSIONES: La incidencia de las infecciones nosocomiales por estafilococo coagulasa negativo resistente a meticilina fue sorprendentemente muy elevada durante el periodo de estudio con una elevada prevalencia de infecciones asociadas a catéteres intravenosos y vías urinarias.

## 2. ABSTRACT

2.1 PURPOSE: To define the incidence of nosocomial-acquired infections caused by methicillin-resistant staphylococci (MRS), the risk factors and predominant species among these microorganisms, associated with a MRS infection.

2.2 DESIGN: Prolective case-control study.

2.3 SETTING: Tertiary-care center.

2.4 PATIENTS: From March 1989 to November 1990 we included 46 inpatients with MRS infections (cases) and 86 inpatients with methicillin-susceptible staphylococci infections (controls).

2.5 METHODS, MEASUREMENTS AND MAIN RESULTS: We interviewed the patients for risk factors and clinical manifestations. The antimicrobial susceptibility testing was performed by microdilution. Methicillin resistance was defined by MIC  $\geq 8\mu\text{g/ml}$ . Other biological properties such as the phenotype of methicillin resistance, synergistic hemolysis and slime production were also investigated.

The incidence of nosocomial infections caused by MRS was 1.05/100 discharges. The identified risk factors (multiple logistic regression method) to acquire a MRS-infection were: hospital-acquired infection (Odds ratio (OR)=7,  $p=0.005$ ), longer previous antibiotic treatment (OR=1.84/week,  $p=0.013$ ), being urinary tract infection (OR=12,  $p< 0.001$ ), intravascular catheter related infection (RM=4.4,  $p=0.009$ ), presence of synergistic hemolysis (OR=5.5,  $p=0.002$ ) and slime production (OR=8.3,  $p=0.001$ ). *S.epidermidis* (42%) and *S.haemolyticus* (25%) were the predominant species. The heterogeneous phenotype of methicillin resistance was observed in 62% of the cases.

2.6 CONCLUSIONS: The incidence of hospital-acquired infections caused by coagulase-negative staphylococci was unexpectedly high during the term of the study with a great prevalence of urinary tract and IV device related infections.

### 3. INTRODUCCION

#### 3.1 Antecedentes

El uso extenso de la penicilina a partir de 1940 fue seguido por la aparición de resistencia a la misma, de 14% en 1946, 38% en 1947 y 59% en 1948 (Ridley M, 1970). Este tipo de resistencia es mediada por  $\beta$ -lactamasas, por lo que en 1959 se introdujeron las penicilinas resistentes a  $\beta$ -lactamasas (metecilina, nafcilina, cloxacilina, oxacilina y dicloxacilina), sin embargo poco tiempo después (Jevons MP, 1961) se detectó la resistencia a estos antibióticos, comunmente referida como resistencia a metecilina (RM) por haber sido ésta la primeramente utilizada. Esta característica se ha observado en estafilococo coagulasa positivo (ECP) (*Staphylococcus aureus*) y coagulasa negativo (ECN), sin embargo son las infecciones por *S.aureus* resistente a metecilina (EARM) las que se han estudiado más por su carácter epidémico a partir de 1960 en Europa (Jevons MP, 1961; Kayser FH, 1975; Benner EJ, 1968; Guiguet M, 1990, y Kerr S, 1990). En América se detectó EARM en el área de Boston en 1968, seguido de incremento súbito en 1981 hasta alcanzar diseminación en la mayoría de los estados de la Unión Americana en los noventas (Barret FF, 1968; O'Tolle RD, 1970; Klimex JJ, 1976; Crossley K, 1979; Graham DR, 1980; Craven DE, 1981; Boyce JM, 1982; Haley RW, 1982; Boyce JM, 1983; Schaeffler S, 1984). Posteriormente, se ha detectado en Africa (Davis WG, 1974; Eykin SJ, 1988); Australia (Townsend DE, 1987) y Asia (French GL, 1988). Generalmente, estos brotes se han presentado en hospitales de tercer nivel, hasta alcanzar el 50 % de las infecciones estafilocócicas en esos centros (Haley RW, 1982). Se han informado infecciones por EARM adquiridas en la comunidad (Saravolatz JD, 1982) con diseminación intrahospitalaria.

Una vez que el estafilococo resistente a metecilina (ERM) se ha introducido en el hospital, su erradicación es muy difícil, a pesar de las medidas tomadas para su control (Thompson RL, 1982, Boyce JM, 1983), dado que posee una gran capacidad para colonizar heridas, tubos de drenaje, catéteres uretrales e intravasculares, lesiones triviales sobre las manos de médicos y enfermeras, así

como en objetos inanimados (Thompson RL, 1982; Crossley K, 1979). Algunos de los factores que se asocian con la adquisición de ERM son:

- Estancia hospitalaria mayor de dos semanas.
- Administración previa de antimicrobianos.
- Presencia de heridas, padecimientos crónicos o debilitantes y drogadicción (Christensen GD, 1982; Benner EJ, 1968; Klimex JJ, 1978; Saravolatz JD, 1982; Crossley K, 1979).

Se ha informado que el 53 % de los sujetos implicados en una epidemia cursaba con infección clínica (Thompson LR, 1982), predominante en heridas (60 %) y vías respiratorias (20 %); en otros individuos (47 %) se encontró colonización frecuente en las mismas regiones. En los empleados a cargo de estos enfermos la colonización nasal por ERM alcanzó hasta el 5.5 % (Rhinehart E, 1987).

Las cepas clínicas de ERM suelen ser resistentes a todas las penicilinas (Lacey RW, 1975) y aunque existe discrepancia en cuanto a la "susceptibilidad" frente a las cefalosporinas (Lacey RW, 1975; Crossley K, 1979; Richmond AS, 1977), para fines de tratamiento se le considera como resistente a todos los  $\beta$ -lactámicos. El ERM tiene capacidad de adquirir plásmidos de resistencia a cloranfenicol, aminoglucósidos, trimetoprim y a otros agentes antiestafilocócicos incluyendo algunos de uso relativamente reciente como las quinolonas (Graham DR, 1980; Locksley RM, 1982; Shalit I, 1989; Daum TE, 1990; Kotilainen P, 1990). También se ha documentado resistencia a metales pesados como mercurio, cadmio, acetato fenilmercuríco, arsenito, arsenatos y compuestos de amonio cuaternario, codificada por ADN del cromosoma o plásmidos en el ERM (Townsend DE, 1987), lo que podría explicar la dificultad de su erradicación. Se considera a la vancomicina como el antibiótico de elección para estas infecciones (Sorrel TC, 1982), dada sus estabilidad frente la mayoría de los mecanismos de resistencia conocidos en estafilococo, no obstante se han informado casos esporádicos de resistencia a vancomicina en ECN (Tuazon CU, 1983; Schwalbe RS, 1987).

La interacción de los  $\beta$ -lactámicos con los microorganismos se ve afectada por dos grupos de proteínas con propiedades enzimáticas: a) Las proteínas fijadoras de penicilina (PFP), involucradas en la síntesis de la pared celular que tienen gran afinidad por el antibiótico y representan el blanco letal. En estafilococo las mejor estudiadas son tres: la PFP1, la PFP2 y la PFP3, que son esenciales para la bacteria y funcionan como transpeptidasas de péptidoglican (Georgopapadakou NH, 1986). b) Las  $\beta$ -lactamasas que son un grupo de enzimas que protege a la célula del ataque de los  $\beta$ -lactámicos. En estafilococo se localizan intra y extracelularmente; hidrolizan la penicilina G, las aminopenicilinas (amoxicilina, ampicilina) y penicilinas antipseudomonas (carboxipenicilinas, ureidopenicilinas). Las cefalosporinas son hidrolizadas lentamente por estas enzimas, con excepción de la cefaloridina.

Se conocen tres mecanismos de susceptibilidad reducida a meticilina:

a) Resistencia intrínseca, en la que la bacteria tiene la capacidad de producir una proteína fijadora de penicilina adicional (PFP2a) de muy baja afinidad para los  $\beta$ -lactámicos (Chambers HF, 1985; Hartman BJ, 1989), codificada por un gen cromosomal de 2.7 kilobases, ubicado en la región del ADN denominada MEC (Hackbarth CJ, 1989), regulada por un factor no identificado (X) y que actúa en la vía autolítica que controla la degradación de la pared celular (Koronflesh MW, 1986). Estas características cromosómicas, son codificadas por genes diferentes que funcionan en forma cooperativa (Murakami K, 1989).

b) Resistencia adquirida o "borderline" en *S. aureus*, en la que el germen es capaz de hidrolizar las penicilinas resistentes a  $\beta$ -lactamasa debido a la gran cantidad de  $\beta$ -lactamasas que produce con el siguiente gradiente:

penicilina > oxacilina > cefalotina > meticilina (McDougal LK, 1986)). Es una característica codificada por plásmidos (Jorgensen JH, 1986). Su detección se ha efectuado mediante estudios dinámicos de actividad bactericida utilizando inhibidores de  $\beta$ -lactamasa

(ácido clavulánico, sulbactam) con lo que se logra reducir la concentración mínima inhibitoria del  $\beta$ -lactámico a niveles de sensibilidad (Woods GL, 1988). Se desconoce su verdadero significado clínico-terapéutico aun cuando existe el consenso de considerar a los estafilococos hiperproductores de  $\beta$ -lactamasas como resistentes a meticilina.

c) Resistencia por modificación en las proteínas fijadoras de penicilina, en la que todas las PFP se producen normalmente, pero su afinidad por los  $\beta$ -lactámicos está alterada (Tomasz A, 1989).

La resistencia intrínseca a meticilina es la que más se ha estudiado, por su mayor frecuencia. Se le reconocen dos formas de expresión fenotípica: la homogénea donde todas las células de la población bacteriana manifiestan una resistencia uniformemente alta y la heterogénea, que es la predominante, en la que existen subpoblaciones sensibles y resistentes (Hartman BJ, 1986), la cual no se manifiesta en las condiciones habituales (isomolaridad, 35-37°C e incubación por 24hs); pero sí al incrementar la osmolaridad (NaCl 2-5 %), con temperatura de 30 a 35°C e incubación durante 48hs (Thornsberry C, 1985; Coudron PE, 1986).

El estafilococo está dotado de otras características biológicas que utiliza en su interacción con su hospedero y que pudieran coexistir con la resistencia o bien asociarse a propiedades de virulencia:

1. Hemólisis sinérgica. El estafilococo es un germen capaz de producir una gran variedad de substancias, entre las que se incluyen toxinas citolíticas con acción sobre eritrocitos de diferentes especies animales lo que ha servido de base para su clasificación (Elek, 1950):

toxina  $\alpha$  que origina una superficie de hemólisis completa, amplia, con bordes difusos en sangre de conejo, carnero y bovino.

toxina  $\beta$  que da una zona amplia de hemólisis incompleta con bordes netos en sangre de carnero, bovino y humano.

toxina  $\delta$  que da un área de hemólisis completa, estrecha y con bordes difusos en sangre de cualquier especie de las mencionadas.

toxina  $\epsilon$  causa una zona de hemólisis completa y amplia en

sangre de carnero y conejo.

La toxina  $\delta$  es un péptido termoestable que actúa como surfactante sobre la membrana celular; lisa una gran variedad de células y se ha considerado como factor patogénico en las infecciones por estafilococo (Kasimir S, 1990), mediante un efecto proinflamatorio (aumento intracelular de calcio libre, liberación de radicales  $O^-$  y de enzimas, así como activación de acetiltransferasa que conduce a la activación de factor activador de plaquetas). Cantidades sublépticas de toxina  $\delta$  causan liberación de los componentes celulares sin llegar a la lisis (Stephen S, 1986). Por otra parte, cantidades tan pequeñas como 0.01u de la hemolisina  $\beta$  causan lisis celular en presencia de 0.004u de toxina  $\delta$ , facilitando su detección (sinergismo) (Stepehn S, 1986). El significado clínico de los estudios sobre hemólisis sinérgica no es claro en la actualidad (Hebert GA, 1985), sin embargo tampoco se ha estudiado su posible asociación con los fenómenos de resistencia a meticilina o con la producción de  $\beta$ -lactamasas.

2. Producción de glicocálix o limo (slime). El glicocálix es una estructura que contiene polisacáridos, de origen bacteriano, localizado fuera de los elementos integrales de la membrana externa de los gérmenes gramnegativos y del péptidoglican de los grampositivos (Costerton JW, 1981). Puede adoptar una forma de estratos conformados por varias subunidades de glicoproteínas sobre la superficie de la célula o de cápsulas compuestas de una matriz fibrosa, de espesor variable que puede tener o no suficiente coherencia para excluir partículas (rígidas o flexibles), asociarse íntimamente a la superficie celular (integral) o unirse a las células en algunas circunstancias y desprenderse al medio en otras (periférica) (Costerton, 1981).

*S.aureus* produce cápsulas integrales, típicamente compuestas de N-acetil-aminoazúcares y ácidos N-acetil-amino-hexurónicos. En este microorganismo se han descrito varios tipos de cápsula (Hochkappel HK, 1987) predominado los tipos 5 y 8 en los aislamientos clínicos (Mazie JC, 1989); sin embargo su naturaleza química no se conoce por carecer de un medio químico bien definido

para su producción (Drewry DT, 1990).

El ECN generalmente produce un glicocálix laxamente adherido a la célula que lo capacita para fijarse a la superficie de dispositivos médicos (Christensen GD, 1982; Peters G, 1982). Este rasgo se ha encontrado relacionado con sepsis asociada a catéter intravascular (Ishak MA, 1985) e infecciones por sistemas de derivación ventriculares (Diaz-Mitoma F, 1987). Se desconocen todas sus características biofísicas y bioquímicas pero se sabe que es soluble en agua; tiene dos monosacáridos específicos (manosa y galactosa); consta de un 20% de proteínas y 22% de carbohidratos (Kotilainen P, 1990). Biológicamente se han descrito dos componentes: uno con funciones de adhesina, es un polisacárido rico en galactosa que media la fijación inicial (acción máxima a las 2hs) del germen a una superficie lisa ; el otro parece ser un polisacárido rico en glucosa (limo) que propicia la acumulación tardía (efecto máximo a las 6 hs) del germen (Christensen GD, 1990). Sólo el 51% de los organismos productores de la adhesina fueron limo positivos contra el 20% de los que no elaboraron adhesina (Christensen GD, 1990). Se han identificado proteínas del hospedero que median la adherencia de *S.aureus* (fibrinógeno y laminina) y de ECN (fibronectina) en catéteres (Hermann M, 1988).

3. Especie. Se reconocen 23 especies de estafilococo, 21 son coagulasa negativo; 12 de éstos forman parte de la flora normal. Originalmente, sólo *S.aureus* fué considerado como patógeno, siendo identificado por la producción de coagulasa, fermentación de manitol y presencia de proteína A (Pfaller MA, 1988); también ha sido el microorganismo que se ha asociado con la resistencia a meticilina. Durante los últimos diez años, se ha informado que ECN es un patógeno nosocomial de importancia tanto en infecciones de vías urinarias como en aquellas del torrente circulatorio hasta alcanzar, en algunos centros, el primer lugar como causa de bacteremia nosocomial frecuentemente asociada al empleo de catéteres intravasculares. Las especies de ECN que se han reconocido hasta ahora son: *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.simulans*, *S.saprophyticus*, *S.warneri*,

*S.sacharolyticus*, *S.capitis*, *S.caprae*, *S.auricularis*, *S.cohnii*, *S.xylosus*, *S.arletae*, *S.equorum*, *S.gallinarum*, *S.kloosie*, *S.carnosus*, *S.sciuri*, *S.lentus*, *S.caseolyticus*, *S.lugdunensis*, *S.schleiferi* y algunas cepas de *S.hyicus* (Schleifer KH, 1990). Entre las cinco primeras especies se han identificado patógenos significativos en humanos. Recientemente, se ha informado de nueva cuenta la aparición de resistencia a meticilina en ECN aislado de infecciones nosocomiales. Para su identificación se cuenta, en la actualidad, con micrométodos sencillos y altamente reproducibles por lo que no es necesario llevar a cabo la identificación con el macrométodo descrito por Kloos en 1975.

En México se ha detectado ERM en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán desde 1981 cuando el 13% de los aislamientos clínicos de *S.aureus* y el 21% de ECN fueron consideradas como resistentes a meticilina, con incremento a 14 y 43% respectivamente en 1987 (Laboratorio de Microbiología Clínica). En el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, IMSS, se informó resistencia a dicloxacilina del 5.7% en *S.aureus* y de 12.1% en ECN en 1981 con elevación a 11.4 y 14.3% respectivamente en 1985 (Guiscafré GH, 1985). En el Instituto Nacional de Perinatología se informó susceptibilidad a cefalotina del 58% y a dicloxacilina del 40.7 % en *S.aureus* (Calderón-Jaimes E, 1987). En el Hospital de Infectología, Centro Médico La Raza, IMSS, la susceptibilidad de *S.aureus* a cefalotina fué del 75 % en 1987 (Laboratorio de Microbiología Clínica) y se informó que el 29 % de los aislamientos clínicos de ECN, en orina, fué resistente a dicloxacilina (Morán RE, 1986). En el Hospital Angeles del Pedregal durante 1988, el 5% de los aislamiento clínicos de *S.aureus* y 34% de los ECN se consideraron resistentes a meticilina (Laboratorio de Microbiología Clínica). Por otra parte en el Hospital Infantil de México la prevalencia de infecciones por *S.aureus* meticilino-resistente de origen nosocomial fue de 24.2% (Alpuche-Aranda C, 1989).

### 3.2. Justificación.

La existencia de ERM en nuestro país es una realidad no evaluada adecuadamente dado que los estudios informados, por lo general, han sido realizados en la siguiente forma:

- a) Sin reconocer como patógeno al ECN.
- b) Efectuando pruebas de susceptibilidad sólo al *S.aureus*.
- c) Sin utilizar las condiciones óptimas que permitan al estafilococo expresar su fenotipo de resistencia.

En cuanto a la patogenicidad del ECN: en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) se ha encontrado que el 29% de las bacteremias nosocomiales primarias son causadas por estafilococo, con predominio del ECN (61.5%) (Epidemiología Hospitalaria); en el Instituto Nacional de Perinatología *S.epidermidis* es un agente frecuente de infección neonatal nosocomial (Calderón-Jaimes, 1987). Por otra parte, en el Laboratorio de Microbiología Clínica se han estudiado 961 cepas de estafilococo en condiciones que favorecen la expresión de resistencia a meticilina, determinando que 3/355 *S. aureus* y 37/606 ECN fueron meticilino-resistentes.

La existencia de ERM dentro del hospital plantearía una gran gran problemática por lo siguiente:

- 1) Su erradicación es muy difícil, ya que de todos los hospitales afectados sólo se ha logrado erradicar en el 12% (Thompson RL, 1982).

- 2) Su frecuente asociación a multirresistencia (aminoglucósidos, macrólidos,  $\beta$ -lactámicos y quinolonas) limitaría el tratamiento de elección para las infecciones sintomáticas por estos gérmenes a la vancomicina, antibiótico con toxicidad propia o incrementada al asociarse con otros antibióticos vgr. aminoglucósidos (Sorrel TC, 1982).

Por estas razones y dado que el INNSZ es un hospital de tercer nivel, consideramos conveniente evaluar el significado clínico, las características microbiológicas y verificar los factores de riesgo en la adquisición de ERM, ya que las diversas condiciones que se

viven como país en vías de desarrollo, pudieran ser determinantes de factores de riesgo locales (Ponce de León S, 1991) para la adquisición de estas infecciones.

#### 4. HIPOTESIS

4.1. La frecuencia de infecciones nosocomiales sintomáticas causadas por ERM es de importancia epidemiológica por representar más del 3% de las infecciones nosocomiales por estafilococo.

4.2. La administración previa de antimicrobianos y la hospitalización prolongada son factores de riesgo primarios para adquirir una infección por ERM.

4.3. Las infecciones por ERM adquiridas en el INNSZ son causadas más frecuentemente por ECN, particularmente *Staphylococcus epidermidis*, que por *S.aureus*.

4.4. La producción de limo y la hemólisis sinérgica son características biológicas asociadas a metilino-resistencia.

## 5. OBJETIVOS

Determinar en un hospital de tercer nivel del sistema de salud mexicano (Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán):

5.1. La incidencia de infecciones nosocomiales (sintomáticas y asintomáticas) causadas por ERM.

5.2. Si el uso de antibióticos dentro de las 4 semanas previas al aislamiento de ERM y la hospitalización prolongada (mayor de 14 días), son factores de riesgo para la adquisición de infección por ERM.

5.3. Cuales son las especies y biotipos predominantes de estafilococo en las infecciones nosocomiales por ERM.

5.4. La relación que existe entre la producción de limo, hemólisis sinérgica y resistencia a meticilina.

## 6. METODOS, SUJETOS Y MATERIALES.

6.1. Diseño del estudio. Se trata de un estudio comparativo, observacional, transversal, prolectivo de casos y controles. La captación del grupo de estudio se llevó a cabo durante el periodo comprendido del 1º de mayo de 1989 al 31 de octubre de 1990, incluyendo en forma simultánea los casos y los controles. Todos fueron enfermos de nuevo diagnóstico (incidentes) a quienes se efectuó una entrevista, dentro de las primeras 48hs de haber identificado al estafilococo como agente infectante, mediante un cuestionario (apéndice 1). Los gérmenes se conservaron para efectuar gradualmente las pruebas de sensibilidad, hemólisis sinergista, producción de limo y fenotipo de resistencia a meticilina. La información se capturó en una microcomputadora compatible con IBM, programa Paradox 3, que permitió crear, relacionar y analizar la base de datos (apéndice 2)

### 6.2. Definición de la Población.

#### 6.2.1. Criterios de inclusión.

6.2.1.1. Casos: pacientes hospitalizados en el INNSZ con infección por ERM, incidentes en el periodo de vigilancia epidemiológica establecida del 1º de mayo de 1989 al 31 de octubre de 1990.

6.2.1.2. Controles: Pacientes hospitalizados en el INNSZ, con infección por estafilococo sensible a meticilina (ESM), incidentes dentro del mismo periodo de vigilancia.

6.2.2. Criterios de exclusión: ninguno

6.2.3. Criterios de eliminación.

6.2.3.1. Sujetos que no contaron con la información pertinente (factores de riesgo no investigados o microorganismo no recuperado).

#### 6.2.4. Definición de las infecciones.

6.2.4.1. Infecciones sintomáticas. Tanto el *S.aureus* como el ECN, resistente o sensible a meticilina (SARM, SASM, ECNRM y ECNSM) se consideraron causantes de infección sintomática en las siguientes

condiciones:

6.2.4.1.1. Infección de heridas, cuando hubo evidencia de inflamación, secreción purulenta y el aislamiento de estafilococo como agente único o como microorganismo predominante, en caso de infecciones mixtas.

6.2.4.1.2. Infección asociada a catéteres intravasculares. Se considerará la presencia de más de 15 unidades formadoras de colonias (UFC) después del rodamiento de un segmento distal del catéter (5cm) en una caja con medio de cultivo (Maki DG, 1977), aunado a datos de inflamación locales o coaislamiento del estafilococo en sangre.

6.2.4.1.3. Neumonía, pacientes con sospecha clínica, que reunieron por lo menos dos de los siguientes criterios: fiebre, tos con expectoración purulenta, síndrome de condensación pulmonar, leucocitosis con desviación hacia la izquierda o infiltrado alveolar en la telerradiografía de tórax. Se consideró sólo a *S.aureus* en las siguientes muestras:

6.2.4.1.3.1. Expectoración con  $>25$  leucocitos y  $<10$  células epiteliales por campo 10x en un examen microscópico (Donowitz GR, 1979).

6.2.4.1.3.2. Aspirado transtraqueal.

6.2.4.1.3.3. Material obtenido por broncoscopia.

6.2.4.1.4. Bacteremia. El aislamiento de ECN en dos o más muestras tomadas de sitios diferentes. Para el *S.aureus* fue suficiente su aislamiento en una muestra como mínimo.

6.2.4.1.5. Infecciones de cavidades que normalmente son estériles. Se consideraron tanto al *S.aureus* como al ECN siempre y cuando desarrollaran en más de un medio de cultivo y se asociaran a:

- a) Líquido de diálisis peritoneal con  $>100$  leucocitos/mm<sup>3</sup>.
- b) Derrame pleural con una o más de las siguientes características: pH  $<7.30$ ; relación de las proteínas del líquido pleural con las proteínas plasmáticas  $>0.5$ ; deshidrogenasa láctica  $>200$ u/ml ó  $>10,000$  leucocitos/mm<sup>3</sup> (Hinshaw HC, 1985; Good JT, 1980).
- c) Líquido cefalorraquídeo. Para las infecciones postquirúrgicas se consideró una cuenta de leucocitos  $>100$ /mm<sup>3</sup> y una concentración de

proteínas >100 mg/dl (Smith IM, 1979). Se definió como infección asociada a un sistema de derivación ventricular cuando se aisló estafilococo del líquido cefalorraquídeo obtenido por punción de la antecámara valvular o por cultivo de la válvula (Gardner P, 1985).

d) Líquido articular. Se incluyeron pacientes con leucocitos >50,000/mm<sup>3</sup>, con proporción >80% de polimorfonucleares, y glucosa baja (<50% de la sérica) en líquido sinovial (Fitzgerald RH, 1982).

6.2.4.1.6. Infección de vías urinarias. Orina con >10<sup>4</sup> UFC de estafilococo como germen único de una muestra obtenida por chorro medio, con o sin leucocituria y 10<sup>2</sup> UFC en la orina (obtenida por punción del catéter) de los pacientes con sonda vesical (Garibaldi RA, 1974; Daifuku R, 1984), con presencia de dos de los siguientes datos clínicos: polaquiuria, micción dolorosa, fiebre, dolor lumbar.

6.2.4.2. Infección asintomática fue aquella caracterizada por el aislamiento de *S.aureus* o ECN en un individuo que no reunió los criterios citados, anteriormente, para considerarla como episodio sintomático.

6.2.4.3. Infección intrahospitalaria. Se consideró como infección intrahospitalaria a aquella que se hizo aparente en un paciente después de 48 hrs de hospitalización y que no se encontraba presente o en periodo de incubación al momento de su ingreso (Ponce de León S, 1985).

#### 6.2.5. Ubicación espacio - temporal.

Este estudio se llevó a cabo en el INNSZ durante el periodo comprendido del primero de marzo de 1989 al 28 de febrero de 1991.

#### 6.2.6. Número de sujetos requeridos y su justificación.

El tamaño de la muestra se calculó en base a:

a) Relación de casos a controles	1:2
b) Nivel de alfa unimarginal	0.05
c) Nivel de beta unimarginal	0.20
d) Magnitud del riesgo mínimo a detectar (R)	3
e) Proporción de exposición al factor de riesgo	

(estancia hospitalaria prolongada) en el grupo control (Po)

0.20

Este factor de riesgo se seleccionó por ser el que requería de una muestra mayor para su estimación, ya que para el uso de antibióticos, con una proporción de exposición del 50%, bastaban sólo 40 casos.

f) La fórmula utilizada fue (Schlesselman JJ, 1982):

$$n = \frac{Za^2 + 1/C + Zb^2 P/Q + PoQo/C}{(P1 - Po)}$$

donde:

$$Za = 1.64$$

$$Zb = 0.84$$

$$\text{Controles (C)} = 2$$

$$R = 3$$

$$Po = 0.20$$

$$P1 = PoR / (1 + Po(R-1))$$

$$Q1 = 1 - P1$$

$$P = (P1 + CPo) / (1 + C)$$

$$Q = 1 - P$$

Conclusión: 43 casos y 86 controles.

#### 6.2.7. Especificación de variables.

##### 6.2.7.1. Variables demográficas:

Edad

Sexo

Fecha de hospitalización

##### 4.2.7.2. Variables clínico-epidemiológicas:

###### 4.2.7.2.1. Primarias:

Administración previa de antimicrobianos

Estancia hospitalaria prolongada

###### 4.2.7.2.2. Secundarias:

Hospitalización durante las 4 semanas previas a su ingreso.

Diagnóstico de hospitalización

Enfermedades subyacentes

Infección sintomática

Infección asintomática

Infección intrahospitalaria

Procedimientos invasivos efectuados

Sitio de infección

#### 6.2.7.3. Variables microbiológicas:

Aislamiento de otros gérmenes concomitantemente

Especie de estafilococo

Sensibilidad a oxacilina

Homo o hetero-resistencia

Hemólisis sinérgica

Hiperproducción de  $\beta$ -lactamasas

Producción de límo

### 6.3. Métodos microbiológicos

#### 6.3.1. Método de escrutinio

Se estableció un sistema de vigilancia en el laboratorio de Microbiología Clínica del INNSZ. Para esto, se llevó a cabo sensibilidad antimicrobiana en placa, para lo cual se utilizó agar Mueller-Hinton suplementado con Ca ++ (50mg/L), Mg ++ (25 mg/L), NaCl (4%) y oxacilina (equivalente de la meticilina) (4  $\mu$ g/ml). Se inocularon 10  $\mu$ l de una suspensión con turbidez similar al estándar 1 de McFarland ( $3 \times 10^8$  UFC), se incubó a 30°C durante 48 hs. El desarrollo de una o más UFC fue suficiente para definir al organismo como probablemente resistente a meticilina (Chambers HF, 1988).

#### 6.3.2. Identificación

Como *Staphylococcus spp* se identificó a un organismo con las siguientes características: cocos grampositivos, agrupados en racimos con producción de catalasa; *S.aureus* con la producción de coagulasa (Koneman EN, 1989) y la identificación de la especie de los estafilococos coagulasa negativos se llevó a cabo con un micrométodo comercial (Staph-Trac, Analitab-Products, Nueva York).

#### 6.3.3. Sensibilidad antimicrobiana.

La resistencia a meticilina se confirmó mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por microdilución a oxacilina. También se determinó la sensibilidad antimicrobiana a otros antibióticos con efecto antiestafilococo (penicilina G, vancomicina, eritromicina, clindamicina, amikacina,

gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina y tetraciclina) (apéndices 11.3 y 11.4) de acuerdo a recomendaciones previas (NCCLS, 1985; Jones RN, 1985). El control de calidad del método de microdilución se llevó a cabo empleando como control la cepa de *S.aureus* ATCC 29213, cuyo rango de sensibilidad a oxacilina va de 0.12 a 0.5 µg/ml. Se consideró aceptable todo ensayo que tuviera resultados del control dentro de los límites previamente definidos (Sahm DF, 1991). Se tomó como resistencia a oxacilina una CMI  $\geq 8$  µg/ml; como sensibilidad intermedia una CMI  $\geq 1$  y  $< 8$  µg/ml (potencialmente resistentes a oxacilina por hiperproducción de  $\beta$ -lactamasas) y como sensible una CMI  $< 1$  µg/ml.

#### 6.3.4. Definición de hetero u homorresistencia a met icilina

Se determinó la hetero u homorresistencia a oxacilina en los aislamientos clínicos confirmados como resistentes a oxacilina, por microdilución, de acuerdo a un método descrito previamente, (apéndice 11.5), (Hartman BJ, 1986); se inocularon dos placas de agar soya tripticasa, una con oxacilina 50µg/ml y otra sin antibiótico, con 1µ de una dilución 1:100 y 1:1000 respectivamente de una suspensión bacteriana aproximada al estandard 2 de McFarland ( $6 \times 10^8$  UFC). El número de UFC que desarrollaron en el medio de cultivo con oxacilina se dividió entre la cuenta de UFC que crecieron en soya tripticasa sin antibiótico y se multiplicó el resultado por 100. Se definió como heterorresistencia una proporción  $< 1\%$  y como homorresistencia una proporción  $\geq 1\%$ .

#### 6.3.5. Sinergismo de oxacilina con ácido clavulánico

Se realizó sinergismo entre oxacilina y ácido clavulánico (inhibidor de  $\beta$ -lactamasas) por el método del tablero de ajedrez (Edberg SC, 1981) a aquellos aislamientos clínicos con sensibilidad intermedia a oxacilina. Se llamó positiva una prueba con reducción de tres titulaciones o más de la CMI a oxacilina y negativa cuando la reducción fue menor (apéndice 11.6).

#### 6.3.6. Producción de limo.

Fue determinada mediante una prueba cualitativa, catalogando

como germen productor de limo a aquel que inoculado en un tubo de cristal con caldo soya tripticasa a 35°C durante 48hs, formó una película mucóide sobre la pared. Se tomó como control positivo a *S.epidermidis* ATCC 35983 y como control negativo a *S.hominis* ATCC 35982 (apéndice 11.5)

#### 6.3.7. Hemólisis sinérgista

Valorada como positiva en el estafilococo que dio un área de hemólisis total sobre la zona de hemólisis incompleta causada por *S.aureus* ATCC 25923, productor de toxina  $\beta$ , en tres placas de agar soya tripticasa suplementadas con sangre de ovino, bovino o humana, incubadas a 35°C durante 48 hs (apéndice 11.6)

#### 6.4. Consideraciones éticas

Dado que el desarrollo de este protocolo no contraviene ninguna norma ética, porque no atenta contra la vida, pudor o personalidad del sujeto, no se requirió aprobación de los pacientes ni del Comité de Investigación Biomédica en Humanos del INNSZ.

#### 6.5. Análisis de los datos.

6.5.1 Control de calidad. Se efectuó el coeficiente de correlación intraclase para evaluar la consistencia del método de microdilución (Kramer MS, 1981), con el paquete estadístico True Epistat de 1990. Para esto se seleccionaron 14 aislamientos de estafilococo en los que se determinó la CMI para 10 antibióticos, en dos ensayos. El índice Kappa ( $k$ ) se utilizó para medir la concordancia inter-observador (Kramer MS, 1981) en las pruebas de producción de limo y hemólisis sinérgista, empleando 65 y 49 aislamientos respectivamente.

6.5.2. Se calculó la proporción de infecciones por ERM entre el número de egresos (IERM/E), infecciones nosocomiales (IERM/IN) e infecciones nosocomiales por estafilococo (IERM/INE).

6.5.3. Se efectuaron las pruebas de  $\chi^2$ , exacta de Fisher, T de Student y U de Mann Whitney según correspondió.

6.5.4. Se llevó a cabo un análisis a través del paquete estadístico EGRET (Epidemiological Graphics Estimation and Testing

permite estimar el nivel de significancia de la asociación de las variables (valor de p) y la razón de momios con sus intervalos de confianza del 95%.

Inicialmente se efectuó un análisis univariado en el que se identificaron las variables asociadas con un nivel de  $p \leq 0.10$ . Estas variables se incluyeron en un modelo de regresión logística múltiple para determinar la contribución independiente de los factores de riesgo potenciales.

6.5.5. Se calculó el coeficiente  $\phi$  elaborando una matriz de correlación (Kramer MS, 1981) para investigar asociación entre las características biológicas del estafilococo.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Características clínico-epidemiológicas.

7.1.1. Incidencia. Durante el periodo de estudio comprendido entre mayo de 1989 a octubre de 1990, se registraron 4082 egresos y 728 infecciones nosocomiales (18%). La tasa de infecciones por estafilococo fue de 2.3%, de los cuales 1.45% correspondió a ECN (tabla 1). La incidencia de infecciones nosocomiales por ERM fue de 1.05/100 egresos (43/4082) (tabla 2); 19 casos presentaron datos clínicos de infección y comprendieron el 20% (19/94) de las infecciones nosocomiales por estafilococo (tabla 2).

7.1.2 Características de la población. Se incluyeron 46 casos y 86 controles, cuya mediana de edad fue de 44 (14-84) y de 45.5 años (2-80) respectivamente. Los grupos no difirieron en características como: edad  $\geq 60$  años, sexo, antecedente de hospitalización previa y enfermedad subyacente; pero sí cuando se compararon con respecto al uso previo de antibióticos, presencia de síntomas, sitios de infección, uso de catéteres intravasculares y estancia hospitalaria  $\geq 14$  días (tabla 3).

Tabla 1. Incidencia de infecciones nosocomiales en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Mayo de 1989 a octubre de 1990.

	n	Tasa*
Total de egresos	4082	
Infecciones nosocomiales	728	18.0
Infec. nosoc. por estafilococo	94	2.3
Infec. nosoc. por <i>S.sureus</i>	35	0.86
Infec. nosoc. por ECN <sup>†</sup>	59	1.45
Infec. nosoc. sintomáticas por ERM <sup>‡</sup>	19	0.46

\*- Eventos/100 egresos      +- Estafilococo coagulasa negativo  
‡- Estafilococo resistente a meticilina

Tabla 2. Incidencia de infecciones nosocomiales causadas por estafilococo metilino-resistente en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Mayo de 1989 a octubre de 1990.

Frecuencias determinadas	n	%
Infecciones nosocomiales por ERM*/Egresos	43/4082	1.05
Infecciones nosocomiales por ERM/Infecciones nosocomiales	94/728	12.9
Infecciones nosocomiales sintomáticas por ERM/Infecciones nosocomiales por estafilococo	19/94	20.2
Infecciones nosocomiales sintomáticas por ERM/Infecciones nosocomiales por ERM	19/43	44

\*- Estafilococo resistente a metilina.

Tabla 3. Características clínicas de 46 pacientes que adquirieron una infección por estafilococo resistente a metilina y de 86 infectados con estafilococo sensible.

	Casos	n=46	Controles	n=86	p*
Edad ≥60 años	12	26%	25	29%	0.7
Sexo femenino	25	54%	44	51%	0.7
Hospitalización previa	16	35%	19	22%	0.09
Insuficiencia renal	5	11%	7	8%	0.6
Diabetes mellitus	10	22%	28	33%	0.6
Cirrosis hepática	5	11%	6	7%	0.4
Cáncer	9	20%	13	15%	0.5
Enfer.tejido conectivo	2	4%	7	8%	0.4
Transplantados	5	11%	3	4%	0.1
Admón. previa de antibióticos	41	89%	60	69.7%	0.036
Infección asintomática	26	56.5%	22	26.6%	<0.001
Heridas	11	24%	17	20%	0.57
Torrente sanguíneo	5	11%	20	23%	0.10
Infec. asociada a catéter IV <sup>†</sup>	16	35%	13	15%	0.01
Vías urinarias	11	24%	9	11%	0.045
Uso de catéter intravascular	38	82.6%	45	52.3%	<0.001
Empleo de sonda intravesical	22	47.8%	28	32.5%	0.08
Estancia hospitalaria ≥14 d+	30	65.2%	30	34.8%	0.01

\*- Análisis univariado +=días S=Intravascular

7.1.3. Efecto del uso previo de antibióticos y estancia prolongada en la adquisición de infecciones por ERM. El uso previo de antibióticos fue mayor en los casos que en los controles, RM de 2.8 para adquirir infección por ERM (IC95% 1.06-7.3,  $p=0.036$ ) (tabla 5); los aminoglucósidos ( $\chi^2$ ,  $p=0.029$ ) y las cefalosporinas ( $\chi^2$ ,  $p=0.00005$ ) fueron los antimicrobianos utilizados con más frecuencia (Tabla 4)). Los casos se infectaron por ERM durante el tratamiento RM 1.6 (IC95% 1.07-2.3,  $p=0.019$ ), utilizando la vía parenteral más frecuentemente RM 4.2 (IC95% 1.4-12.3,  $p=0.0009$ ) (tabla 4); en ellos se emplearon 3 ó más antibióticos RM 1.8/antibiótico (IC95% 1.3-2.5,  $p<0.001$ ) durante 3 semanas o más RM 1.9/semana (IC95% =1.27-2.8,  $p=0.002$ ) (tabla 5). La estancia hospitalaria previa a la infección por ERM fue mayor en los casos que en los controles (mediana 22 vs 8 días, W.Mann W.  $p<0.001$ ), RM 1.6/semana de hospitalización (IC95% 1.29-2.13,  $p<0.001$ ) (tabla 5).

Tabla 4. Grupos de antibióticos utilizados pre-infección por estafilococo meticilino-resistente en 41 casos y 61 controles.

	Casos		Controles		RM*	IC95%†	p‡
	n=41	%	n=60	%			
Aminoglucósidos	22	53.6	18	30	2.7	1-7	0.029
Cefalosporinas	32	78	21	35	6.6	2.4-18	0.00005
Penicilinas de amplio espectro	9	22	14	23	0.9	0.3-2.6	0.93
Quinolonas	12	29	6	10	2.7	0.9-9	0.09

\*= Razón de momios

†= Intervalo de confianza del 95%

‡= Prueba exacta de Fisher

Tabla 5. El uso previo de antibióticos y la estancia hospitalaria como factores de riesgo primarios en la adquisición de infecciones por estafilococo meticilino resistente en 46 casos y 86 controles. Análisis univariado.

VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS	RM*	IC95%†	P
Uso de antibióticos pre-infección por ERM‡			
Utilización	2.8	1.7-3	0.036
Admón. vía parenteral	4.2	1.4-12	0.009
Número de antibióticos	1.3/antibiótico	1.3-3	<0.001
Duración del tratamiento	1.9/semana	1.3-3	0.002
Estancia hospitalaria	1.6/semana	1.3-2	<0.001

\*= Razón de momios      †= Intervalo de confianza del 95%

‡= Estafilococo resistente a meticilina

7.1.4. Efecto de otros factores de riesgo en la adquisición de infecciones causadas por ERM. En los casos fueron más comunes: la adquisición nosocomial de la infección (RM= 9.8, p=0.001), el uso de catéteres intravasculares (RM= 4.3, p= 0.001), las infecciones de vías urinarias (RM=1.3, p=0.045) e infecciones asociadas a catéter intravascular (RM=2.9, p=0.01) (tabla 6). Las infecciones sintomáticas ocurrieron en 39% de los casos y en 71% de los controles. Las infecciones de tejidos blandos fueron las más frecuentes en los controles.

Tabla 6. Efecto de los factores de riesgo secundarios para la adquisición de infecciones por estafilococo meticilino-resistente en 46 casos. Análisis univariado.

Factores de riesgo	Casos		Controles		RM*	IC95%	p
	n=46	%	n=86	%			
Hospitalización previa	16	35	19	22	2	0.9-4	0.09
Infección nosocomial	43	93	51	59	9.8	2.8-33	0.001
Catéter intravascular	38	83	45	52	4.3	1.8-10	0.001
Sonda intravesical	22	48	28	33	1.8	0.9-3.9	0.08
Heridas	11	24	17	20	1.3	0.5-1.3	0.57
Torrente sanguíneo	5	11	20	23	0.4	0.14-1.3	0.10
Vías urinarias	11	24	17	20	1.3	1-1.5	0.045
Asociada a catéter IV†	16	35	13	15	2.9	1.2-6.9	0.01

\*= Controles      += Razón de momios  
 % = Intervalo de confianza del 95%  
 † = Intravascular

## 7.2. Características microbiológicas

7.2.1. Frecuencia. Se obtuvieron 1258 aislamientos clínicos de estafilococo en el Laboratorio de Microbiología Clínica durante un periodo de 12 meses (julio 1989 a junio 1990); 353 (28%) provinieron de enfermos hospitalizados (tabla 7). La resistencia a meticilina se confirmó en el 28% de los microorganismos aislados de pacientes hospitalizados y en el 6% de los pacientes de consulta externa, de donde estimamos que la frecuencia global de ERM fue de 11.7 x 100 aislamientos. El ECN representó el 64% (226/353) de los aislamientos clínicos del hospital y fue más resistente a meticilina que *S.aureus*. (tabla 8). El ECN correspondió al 95% (93/98) de los gérmenes resistentes a meticilina procedentes de los pacientes hospitalizados.

Tabla 7. Frecuencia de resistencia a meticilina en 1256 aislamientos clínicos de estafilococo obtenidos de pacientes hospitalizados y externos de julio 1989 a junio 1990\*.

	Hospitalizado		Externo	
	n=353	t	n=905	t
Cepas sensibles	229	65	825	91
Cepas resistentes	98	28	50	6
C. con sensib.intermedia	26	7	30	3

\* Frecuencia de estafilococo resistente a meticilina = 11.7/100 aislamientos.

Tabla 8. Susceptibilidad a meticilina en 127 aislamientos de estafilococo coagulasa positivo y 226 de estafilococo coagulasa negativo identificados en 353 pacientes hospitalizados.

	ECP*		ECN+	
	n=127	t	n=226	t
Susceptibilidad:				
Cepas sensibles	119	94	110	49
Cepas resistentes	5	4	93	41
C. con sensib. intermedia	3	2	23	10

\*- Estafilococo coagulasa positivo \*\* Estafilococo coagulasa negativo

7.2.2. Medición del control de calidad. El coeficiente de correlación intraclass para 8 de los 10 antibióticos utilizados fue de 0.61 a 0.97 (tabla 9). El índice Kappa para las pruebas de hemólisis sinergista y producción de limo fue de 0.78.

Tabla 9. Cálculo del coeficiente de correlación intraclase para determinar la variabilidad del método de microdilución, en base al ensayo duplicado de sensibilidad para 10 antibióticos, en 14 aislamientos de estafilococo.

ANTIBIOTICOS	COEFICIENTE DE CORRELACION INTRACLASE
Oxacilina	0.61
Penicilina	0.95
Vancomicina	0.73
Eritromicina	0.98
Trimetoprim/sulfametoxazol	0.55
Clindamicina	0.97
Amikacina	0.40
Gentamicina	0.90
Ciprofloxacina	0.66
Tetraciclina	0.94

### 7.2.3. Sensibilidad antimicrobiana por microdilución.

El patrón de susceptibilidad observado en los aislamientos de ERM fue de multirresistencia (Tabla 10), dado que sólo 4 de 10 antibióticos (vancomicina, amikacina, ciprofloxacina y tetraciclina) inhibieron el 50% de los gérmenes. Vancomicina inhibió el 100% de los microorganismos mientras que la proporción de gérmenes resistentes a penicilina, eritromicina y clindamicina fue mayor del 80% (tabla 11).

Tabla 10. Patrón de susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo meticilino-resistente y meticilino-sensible, aislados de 46 casos y 86 controles respectivamente.

Antibióticos ERM/ESH	Rango (µg/ml)		CMI50* (µg/ml)		CMI90+ (µg/ml)	
	ERM <sup>†</sup>	ESH <sup>†</sup>	ERM <sup>†</sup>	ESH <sup>†</sup>	ERM <sup>†</sup>	ESH <sup>†</sup>
Oxacilina 46/86	8-128	0.062-1	64	0.125	64	0.5
Penicilina 45/86	0.25-64	≤0.031- 32	16	0.5	32	4
Vancomicina 45/86	0.5-4	0.125-2	2	0.5	2	1
Eritromicina 45/84	0.062-32	0.031-32	32	0.125	32	32
Trim/sulfam 45/85	0.031:0.55 -8:150	.008:.14 -8:150	4:75	0.062- 1.15	8:150	1:18
Clindamicina 45/85	≤0.016-16	≤0.016- 16	16	0.062	16	0.125
Amikacina 45/85	0.25-64	0.031-16	8	0.5	32	2
Gentamicina 45/85	0.031-64	0.016-16	16	0.125	16	0.5
Ciprofloxacina 44/86	0.062-32	<0.016-8	0.25	0.125	16	0.5
Tetraciclina 45/86	0.031-16	0.016-16	1	0.25	16	16

\* y + = Concentración mínima inhibitoria para el 50 y 90% de los aislamientos  
 † y ‡ = Estafilococo resistente y sensible a meticilina.

Tabla 11. Magnitud de la resistencia a otros antibióticos en 46 aislamientos clínicos de estafilococo meticilino-resistente y en 36 meticilino-sensibles.

ANTIBIOTICOS	ERM* Ar/Ta <sup>1</sup>	†	ESM- Ar/Ta <sup>1</sup>	‡
Penicilina	45/45	100	56/86	65
Vancomicina	0/45	0	0/85	0
Ciprofloxacina	9/44	20.4	1/86	1.2
Eritromicina	38/45	84.4	9/84	10.7
Trimetoprim/sulfaretoazol	30/45	66.6	4/85	4.7
Clindamicina	37/46	80.4	3/86	3.5
Amikacina	1/45	35.5	0/85	0
Gentamicina	31/45	68.8	3/85	3.5
Tetraciclina	5/45	11	12/86	15†

\* y † = Estafilococo resistente y sensible a meticilina

‡ = Aislamientos resistentes/ Total de aislamientos

#### 7.2.4. Características biológicas del estafilococo y su asociación con resistencia a meticilina

Se identificaron 10 especies de estafilococo con predominio de *S. epidermidis* RM 3.6 ( $p=0.002$ ) y *S. haemolyticus* RM 13 ( $p=0.001$ ) (tabla 12) entre los ERM. El primero fue agente causal de infección en vías urinarias, asociada a catéter y heridas preferentemente; mientras que el segundo causó infecciones relacionadas a catéter y bacteremias (tabla 13).

En el análisis univariado encontramos que: la característica de ser ECN, 15 (IC95% 457,  $p<0.001$ ), la producción de hemólisis sinergista, RM 5 (IC95% 2.4-12,  $p<0.001$ ) y la formación de limo, RM 4 (IC95% 1.4-12,  $p=0.016$ ) (tabla 14) representaron riesgos para resistencia a meticilina; aunque la coexistencia de ERM con otros gérmenes, generalmente gramnegativos, fue mayor en los casos, no hubo diferencia significativa.

Tabla 12. Especies de estafilococo identificados en los aislamientos clínicos y su susceptibilidad a meticilina. Análisis univariado.

	ERM*	ESM*	RM*	IC95%†	p
	n=46	n=86			
ESPECIES	%	%			
<i>S. aureus</i>	6.5	61.6	0.4	0.1-0.15	0.001
<i>S. epidermidis</i>	43	17.4	3.6	1.6-5	0.002
<i>S. simulans</i>	6.5	1.5	5.9	0.13-6	0.128
<i>S. haemolyticus</i>	24	2.3	13	2.7-62	0.001
<i>S. hominis</i>	13	10.4	1.2	0.4-3.8	0.65
Otros**	6.5	7	0.93	0.22-3.9	0.92

\* y + = Estafilococo resistente y sensible a meticilina

§ = Razón de momios | = intervalo de confianza del 95%

\*\* = *S.conhii*, *S.warneri*, *S.capitis*, *S.sciuri*, *S.xylosum*.

Tabla 13. Especies de estafilococo identificados en los sitios más comunmente infectados en 43 casos y 60 controles.

	Heridas	V.urinarias	Asoc.a catéter	T. sanguíneo
	n=28 RH/SM*	n=20 RM/SM*	n=29 RH/SM*	n=25 RM/SM*
<i>S. aureus</i>	1/10	2/3	0/1	0/15
<i>S.epidermidis</i>	4/3	6/3	5/5	2/3
<i>S. simulans</i>	1/0	1/1	1/0	0/0
<i>S. hominis</i>	2/2	1/2	3/3	0/1
<i>S.haemolyticus</i>	1/0	1/0	6/1	3/0
otros+	2/2	0/0	1/3	0/1
Total	11/17	11/9	16/13	5/21

\* = Resistente a meticilina/Sensible a meticilina

+ = *S.capitis*, *S.sciuri*, *S. warneri*, *S.conhii*, *S.xylosum*

Tabla 14. Características biológicas en 46 aislamientos de estafilococo resistente a meticilina y en 86 sensibles. Análisis univariado.

Variables microbiológicas	ERM*		ESM*		IC95% <sup>†</sup>	RM <sup>‡</sup>	p
	n=46	%	n=86	%			
Coagulasa negativo	43	93	33	38	4.2-53	15	<0.001
Hemólisis sinérgica	22	49	13	15	2.3-12	5	<0.001
Producción de limo (ECN)**	20	48	6	18	1.4-12	4	0.016
Infecciones mixtas	15	33	21	24	0.6-3	1.4	0.3

\* y + = Estafilococo resistente y sensible a meticilina.

§ = Intervalo de confianza del 95%      † = Razón de momios

\*\* = Estafilococo coagulasa negativo

7.2.5. Asociación entre las variables biológicas del estafilococo meticilino-resistente. En la matriz de correlación efectuada para la resistencia a meticilina, hemólisis sinérgica y producción de limo se observó asociación entre las dos primeras, con un coeficiente Phi de 0.36 ( $\chi^2$ :  $p < 0.05$ ) (tabla 15)

7.2.6. Expresión fenotípica de resistencia a meticilina. El fenotipo homogéneo de resistencia a meticilina se observó en el 38% de los aislamientos (16/42), 15 fueron ECN. Estos microorganismos, no difirieron de los heterogéneos en la expresión de otras características fenotípicas como producción de limo, susceptibilidad a ciprofloxacina y a trimetoprim-sulfametoxazol; sin embargo sí se observó en su asociación con hemólisis sinérgica (Fisher,  $p=0.00001$ ) (tabla 16).

Tabla 15. Correlación entre las características biológicas de estafilococo resistente a meticilina.

	Hemólisis sinérgica	Producción de limo	Resistencia a meticilina
Hemólisis sinérgica		0.31	0.36*
Producción de limo			0.30
Resistencia a meticilina			

Prueba de Chi<sup>2</sup> para coeficientes Phi: \*\* p<0.05.

Tabla 16. Comparación de algunas características biológicas del estafilococo con su fenotipo de resistencia a meticilina.

	HOM*		HET+		RM <sup>‡</sup>	IC95% <sup>§</sup>	p**
	n=16	‡	n=26	‡			
Producción de limo	5	31	14	54	0.4	0.2-1.3	0.26
Hemólisis sinérgica	15	94	6	23	15	2-103	0.00001
Resistencia a ciprofloxacina	4	25	4	15	1.3	0.6-3.2	0.45
Resistencia a trim/sulfam	9	56	10	40	1.5	0.7-3.4	0.35

\*= Homogéneo    \*\* Heterogéneo    ‡= Razón de momios  
 †= Intervalo de confianza del 95%    \*\*= Prueba exacta de Fisher

7.2.7. Análisis multivariado de las características epidemiológicas y microbiológicas de las infecciones causadas por ERM. El análisis multivariado de las características epidemiológicas y microbiológicas identificadas con valor estadístico en el estudio univariado mostró que la infección nosocomial, la duración del tratamiento antimicrobiano, la infección asociada a catéter intravascular y la de vías urinarias fueron las variables epidemiológicas que, per se, favorecieron la adquisición de

infecciones por ERM; en tanto que de las propiedades microbiológicas sólo la hemólisis sinérgica y la producción de limo se asociaron en forma independiente con el rasgo de resistencia a meticilina (tabla 17). No se encontró diferencia al analizar para factores de riesgo en el grupo de enfermos con datos clínicos de infección.

Tabla 17. Factores de riesgo para la adquisición de infecciones causadas por estafilococo resistente a meticilina. Análisis multivariado.

VARIABLES	RM*	IC95%†	p
<b>EPIDEMIOLOGICAS</b>			
Infección nosocomial	7.0	1.7-26	0.005
Duración del tratamiento	1.84	1.4-2.3	0.013
Infección de vías urinarias	11.98	3-47	<0.001
Infección asociada a catéter	4.4	1.6-14	0.009
<b>MICROBIOLOGICAS</b>			
Hemólisis sinérgica	5.16	1.9-16.6	0.006
Producción de limo	8.3	2.5-30	0.001

\*= Razón de momios

†= Intervalo de confianza del 95%

### 7.3. Sinérgismo con ácido clavulánico

Se llevaron a cabo pruebas de sinérgismo entre oxacilina y ácido clavulánico en seis aislamientos clínicos con CMI  $\geq 8 \mu\text{g}$  (ERM) y tres con sensibilidad intermedia CMI  $>1$  y  $<8 \mu\text{g}$ . Tres ERM no modificaron su CMI al añadir ácido clavulánico, tres ERM disminuyeron  $>3$  títulos de la CMI original. Los tres organismos con sensibilidad intermedia disminuyeron 3 diluciones. De los 6 gérmenes que redujeron su CMI de oxa con ácido clavulánico, 3 causaron infección asociada a catéter. Tres fueron *S.aureus* y tres *S.epidermidis* (tabla 18).

Tabla 18. Prueba de sinergismo con oxacilina/ácido clavulánico en nueve aislamientos clínicos con sensibilidad intermedia a oxacilina.

Especie.	1 <sup>o</sup> CMI <sub>oxa</sub> * µg/ml	2 <sup>o</sup> CMI <sub>oxa</sub> * µg/ml	CMI <sub>oxa/ac.clavulánico</sub> µg/ml
<i>S.epidermidis</i>	2	2	0.25 /4 †
<i>S. haemolyticus</i>	4	64	64.00 /4
<i>S.aureus</i>	2	1	0.125/4 †
<i>S.epidermidis</i>	4	32	0.50 /4 †
<i>S.epidermidis</i>	4	8	0.50 /4 †
<i>S.aureus</i>	2	32	0.125/4 †
<i>S.epidermidis</i>	2	8	4.00 /4
<i>S.aureus</i>	2	1	0.06 /4 †
<i>S.epidermidis</i>	4	64	32.00 /4

\* y + = Primera y segunda concentraciones mínimas inhibitorias para oxacilina

‡ = Aislamientos hiperproductores de β-lactamas

## 8. DISCUSION.

La resistencia a meticilina en estafilococo es un fenómeno que se ha extendido gradualmente a los cinco continentes. En este estudio se demuestra que en el INNSZ, durante 1989 a 1990, una de cada cinco infecciones nosocomiales por estafilococo fue ocasionada por estafilococo coagulasa negativo resistente a meticilina; es decir, un organismo de baja patogenicidad que ha cobrado importancia gradual como causante de bacteremias nosocomiales en la mayoría de las instituciones de tercer nivel de atención médica, hasta ocupar la primera causa de bacteremia nosocomial en el INNSZ durante los últimos cuatro a cinco años. Alarmantemente, el 50% de los episodios de bacteremia nosocomial por ECN y el 57% de las infecciones locales secundarias a catéter intravenoso por ECN fueron ocasionados por el fenotipo resistente a meticilina, lo que indica una alta prevalencia y riesgo de diseminación intrahospitalaria hasta alcanzar proporciones epidémicas.

Los resultados obtenidos difieren de los informes previos realizados por investigadores de Europa, Norteamérica, Africa, Australia, Medio Oriente y Japón (Barret FF, 1968; O'toole RD, 1970; Davis G, 1974; Klimex JJ, 1976; Crossley K, 1979; Boyce JM, 1982; Schaeffler S, 1984; Townsend DE, 1987; French GL, 1988; Guiguet M, 1990) que han informado brotes de infecciones causadas por *S.aureus* resistente a meticilina en: hospitales, casas hogar e, incluso, se ha descrito la diseminación intracomunitaria en drogadictos.

No obstante que la resistencia a meticilina se observó en ECN antes que en *S.aureus* (Stewart GT, 1961) y que la patogenicidad del ECNRM está bien documentada en infecciones oculares (Khan JM, 1984), endocarditis (Karchmer AW, 1983), septicemia asociada a catéter (Forse RA, 1979) y heridas (Archer GL, 1980), no causa brotes de infecciones nosocomiales (Wenzel RP, 1986); sin embargo, en condiciones de alta prevalencia de ECNRM como es el caso del INNSZ, la probabilidad de adquirir una infección por ERM es del orden de uno por 100 egresos.

De acuerdo a nuestros resultados existen riesgos crecientes

(RM 1.6/semana de hospitalización y RM 1.5/semana de tratamiento con antimicrobianos) de que las infecciones nosocomiales por ECN correspondan al fenotipo RM. Estos riesgos son apoyados por los resultados publicados recientemente por Powell (1987), que describió colonización creciente por ECN de tal forma que para el 7º día de estancia hospitalaria la proporción de ECNRM se incrementó de 21 a 57% y por Wenzel (1986), que observó colonización más temprana (4º día) y más frecuente (90%) en los individuos que recibían antibióticos. Este evento pudiera explicarse por la conocida presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre los gérmenes de piel y mucosas, lo que propiciaría una rápida colonización por ECNRM, transmitido a través de las manos del personal que atiende al paciente, en el cual se ha detectado colonización por ECNRM hasta en el 80% de los individuos muestreados (Dennis G, 1986).

El empleo de aminoglucósidos y cefalosporinas fue un factor de riesgo para adquirir una infección por ERM (RM= 2.7 y 5.6), con lo que se confirma la observación hecha con anterioridad (Locksley RM, 1982). Esto es sumamente importante, ya que el consumo de antibióticos es indiscriminado en muchos hospitales de países desarrollados o en vías de desarrollo y permitiría la persistencia y diseminación de ERM como causante de infecciones nosocomiales.

Se encontró al ECNRM frecuentemente asociado como agente causal de infecciones en vías urinarias y asociadas a catéter, con manifestaciones clínicas en 5/11 y 2/6 respectivamente. Estos hallazgos contrastan con lo referido para EARM (Thompson LR, 1982), el que principalmente infecta heridas y vías respiratorias; esta diferencia tal vez esté determinada por otras características biológicas del germen, independientes de la resistencia a meticilina, ya que este rasgo es determinado por el mismo gen cromosómico (*Mec*) que codifica para una PFP2a de baja afinidad para los  $\beta$ -lactámicos, presente en *S. aureus* y en ECN (Hackbarth CJ, 1989). La predilección por el urotelio parece estar en relación con la producción de ureasa y de factores de adherencia específicos que existen en ECN especialmente en *S. saprophyticus* (Hovelius B, 1984)

y no definidos en *S.aureus*.

El patrón de multirresistencia que observamos en los organismos infectantes de nuestros casos, es parecido al referido en EARM (Lacey RW, 1975; Locksley, 1982), posiblemente debido a que estos organismos tienen una gran habilidad para adquirir plásmidos de resistencia a múltiples antibióticos. Es probable que esta propiedad sea determinada por ciertos elementos de ADN, denominados, inicialmente integrones (Stokes HW, 1989), similares a las secuencias de inserción, que funcionan para dar movilidad independiente al material genético transferible o como sitios fijos para su integración. De esta forma facilitan la captura de genes de resistencia individuales o plásmidos completos. Por otro lado, la alta prevalencia de resistencia a gentamicina (68.8%) en los gérmenes estudiados hace pensar en la posibilidad de que la transferencia conjugativa de la resistencia a gentamicina sea un fenómeno común en estos organismos, como se ha descrito en el EARM de comportamiento epidémico (Towsend DE, 1983).

La expresión fenotípica de resistencia predominante fué la heterogénea y coincide con información previa sobre EARM (Hartman BJ, 1986), donde comprendió el 67%. Aunque no se ha informado relación entre la expresión fenotípica de la resistencia a meticilina y la patogenicidad, el haber encontrado una asociación significativa entre la resistencia homogénea y hemólisis sinergista (Fisher,  $p=0.00001$ ) sugiere la posibilidad de coexistencia de marcadores de resistencia y de patogénesis en este subgrupo de organismos. Aunque no se ha definido hasta ahora la base genética que regula la forma de expresión de la resistencia a meticilina, se ha postulado (Hartman BJ, 1986) que en el ERM existe un factor X, regulador de la vía lítica, que se activaría rápidamente a 37°C en los organismos heterogéneos, sin dar oportunidad para que la PFP2a inicie la síntesis de la pared celular, que ha sido suspendida por la acción de la meticilina sobre las PFP esenciales. Por otro lado, en los gérmenes homogéneos la activación lenta del factor X permitiría el funcionamiento oportuno de la PFP2a y la continuación de la síntesis de la pared celular.

Archer (1978) informó que *S.epidermidis* correspondió al 63% de los ECNRM causantes de infecciones asociadas a prótesis valvular y a sistemas de derivación ventricular; Karchmer (1983) encontró *S.epidermidis* resistente a meticilina en el 87% de los casos de endocarditis en prótesis durante el primer año después de la cirugía y en nuestros casos dicho germen representó el 43% de las infecciones por ECNRM. Estos datos denotan que *S.epidermidis* es la especie más prevalente entre los ECNRM. La proporción menor de este microorganismo en los pacientes estudiados, pudiera explicarse por los diferentes sitios de infección que observamos (vías urinarias o asociada a catéter endovenoso) y la presencia de otros cuerpos extraños; ya que como Christensen, Baddour y Hasty han informado (1989), a pesar de la gran variedad de elementos con los que se pueden elaborar los dispositivos médicos (acero, cobalto, cromo, nylon, teflón, dacrón, propileno, polietileno, silicón, látex, seda, etc.), no se cuenta con materiales que eviten la colonización bacteriana. Sin embargo, son dos grupos de factores los que influyen en este fenómeno: el primero incluye el sitio de localización, la ruta y la técnica quirúrgica de inserción, dado que algunos dispositivos se insertan a través de una herida localizada en un área colonizada por gérmenes que pueden persistir en los coágulos o en el tejido necrótico, donde proliferan y condicionan la infección. El segundo concierne a las características del dispositivo, ya que la extensión, la hidrofobicidad y la porosidad de la superficie guardan relación directa con su capacidad de adsorber macromoléculas del hospedero (condicionamiento) que funcionan como receptores específicos para las adhesinas de los gérmenes (Christensen GD, 1989).

Resultó relevante la proporción de *S.haemolyticus* en nuestros casos (24%) y su asociación causal con infecciones secundarias a catéter y bacteremias, dado que se ha descrito (Schwalbe RS, 1990) una selección potencial (inducida) de cepas resistentes a glicopéptidos (vancomicina y teicoplanina) restringida a dicha especie. La resistencia a glicopéptidos se observó en aislamientos clínicos de *S.haemolyticus* (21/62) y no en *S.epidermidis* (10) ni en

*S.aureus* meticilino-resistentes (10) (Schwalbe RE, 1990). Tal característica puede representar un dilema terapéutico dado que hasta ahora la vancomicina ha sido el antibiótico de elección para tratar las infecciones por estos gérmenes. Aunque el mecanismo de resistencia a vancomicina no se conoce para estafilococo, se sabe que en enterococo es mediado por un plásmido conjugativo que codifica la síntesis de una proteína de membrana que inhibe la fijación de la vancomicina (Shlaes DM, 1990). Esto aunado a la evidencia de transferencia de plásmidos conjugativos de *Enterococcus faecalis* a estafilococo (Engel HB, 1980) podría condicionar un problema epidemiológico grave. La posibilidad de que la resistencia a vancomicina se presente en otras especies de ECN es viable ya que se ha informado gran habilidad para intercambiar plásmidos de resistencia en *S.epidermidis* y *S.hominis*, además de *S.haemolyticus* (Noble W, 1986). La prevalencia mayor de estas especies sobre la piel humana, (66-95% de los ECN) (Kloos WE, 1980) podría ser un factor facilitador de su diseminación. Sorprendentemente, *S.aureus* comprendió sólo el 6.5% de los casos estudiados; sin embargo es posible esperar un incremento en el futuro dado que existe el reservorio de la resistencia (ECNRM), del cual es posible su transferencia a organismos con mayor patogenicidad, como *S.aureus* y de éste propiciar su diseminación intraespecie. Varios grupos de investigadores han descrito este fenómeno in vitro e in vivo (Jaffe HW, 1980; Forbes BA, 1983; Novick RP, 1967).

Encontramos dos características biológicas del germen que se asociaron, como factores de riesgo, a la expresión del fenotipo de resistencia a meticilina: producción de limo (RM=4, IC95%=1.4-11.9, p=0.01) y de hemólisis sinergista (RM=5.3, IC95%=2-12, p<0.001). La producción de limo por el fenotipo resistente a meticilina puede actuar como un determinante selectivo importante, porque a la vez que funciona como una resina de intercambio iónico que impide la llegada de antibióticos al germen (Farber BF, 1989), inhibe la fagocitosis (Johnson GM, 1986), facilita su adherencia y colonización posterior. No obstante que la producción de limo se

vinculó con la resistencia a meticilina, en la matriz de correlación, entre las tres propiedades, sólo encontramos asociación significativa entre la resistencia a meticilina y la hemólisis sinérgica. Tal observación ha sido informada en neonatos prematuros (Scheifele DW, 1988), donde 20/25 aislamientos clínicos de *S.epidermidis* (heces) grandes productores de toxina delta, fueron resistentes a oxacilina, gentamicina y eritromicina. Esto sugiere una probable correulación genética de los dos rasgos biológicos de estafilococo, fenómeno descrito por Christensen (1990) y denominado pleiotropismo, consistente en una variación fenotípica simultánea en dos o más rasgos.

Aunque el grupo de gérmenes que encontramos con sensibilidad intermedia, por microdilución, a oxacilina fue pequeño nos permitió observar tres patrones de comportamiento en el sinérgismo entre oxacilina y ácido clavulánico:

1. Organismos con resistencia intrínseca que incrementaron su CMI a oxacilina posiblemente como consecuencia de una dilución inicial de la subpoblación resistente seguida de una adecuada selección después de la microdilución.
2. Otros que no obstante ser resistentes a oxacilina (CMI >= 8 µg/ml) redujeron su CMI en forma considerable, posiblemente porque estos gérmenes sean portadores de uno o varios plásmidos compatibles que le permiten al organismo producir grandes cantidades de β-lactamasa (megaprodutores) con capacidad de hidrólisis de oxacilina y, posiblemente, dar falsamente el fenotipo de resistencia intrínseca.
3. Gérmenes que mantuvieron una CMI intermedia con disminución por el ácido clavulánico, denotando hiperproducción de β-lactamasas. Aunque los microorganismos hiperproductores de β-lactamasas sólo representaron el 4% (6/141), las implicaciones terapéuticas de su detección son importantes porque pueden confundirse fácilmente con el fenotipo heterogéneo de

resistencia a meticilina. El consenso actual es que deben tratarse con vancomicina. (Thornsberry C, comunicación personal, 90<sup>th</sup> ASM Meeting, Anaheim California, mayo de 1990); no obstante, se ha informado que la respuesta a oxacilina, en los modelos experimentales de endocarditis por *S.aureus* sensible a oxacilina o por *S.aureus* hiperproductor de  $\beta$ -lactamasas, fue similar (Thauvin C, 1990).

## 9. CONCLUSIONES

En el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán:

1. La incidencia de infecciones nosocomiales causadas por estafilococo metililino-resistente fue de poco impacto epidemiológico (1/100 egresos) sin embargo, correspondió a una proporción elevada de las infecciones estafilocócicas intrahospitalarias (46%) durante el periodo de estudio.
2. El riesgo de adquirir una infección intrahospitalaria por estafilococo resistente a metililina aumenta 1.5 veces por cada semana de hospitalización y/o de tratamiento con antimicrobianos.
3. Se confirmó el patrón de multirresistencia a los antibióticos en el estafilococo metililino-resistente y no se observó resistencia a vancomicina.
4. Las vías urinarias y los catéteres intravasculares fueron los sitios que se asociaron más frecuentemente con infección por estafilococo metililino-resistente.
5. El grupo de estafilococos coagulasa negativos fueron los organismos predominantemente aislados de las infecciones nosocomiales por el estafilococo resistente a metililina. *S.epidermidis* y *S.haemolyticus* fueron las especies más prevalentes, asociados además a la producción de limo, hemólisis sinergista y al fenotipo de heterorresistencia.
6. Los resultados de este estudio indican el surgimiento de estafilococo coagulasa negativo como un microorganismo relevante para la década de los noventas desde el punto de vista tanto médico como epidemiológico, en virtud de que no sólo es la causa más común de bacteremias nosocomiales

primarias, en numerosos centros de tercer nivel de atención médica, sino que además en muchos hospitales de otros países es un germen con alta prevalencia de resistencia a meticilina.

Las medidas sugeridas para no propiciar la diseminación de la resistencia a meticilina son: el uso racional de antimicrobianos que implica número de antibióticos, dosis y duración del tratamiento mínimo necesarios; medidas efectivas de aislamiento de los sujetos infectados considerando la gran importancia que tiene el lavado de las manos antes y después del manejo de los enfermos o los dispositivos que utiliza y reducción de los procedimientos invasivos en lo posible.

Entre los aspectos para investigar a futuro se considerará: dilucidar la causa de las infecciones por estafilococo resistente a meticilina en vías urinarias, dado que las infecciones nosocomiales en este sitio son las más frecuentes; determinar el tipo de asociación existente entre el fenotipo homogéneo de resistencia a meticilina y la hemólisis sinérgica y definir las características epidemiológicas, microbiológicas y terapéuticas específicas de los gérmenes con resistencia intermedia.

## 10. REFERENCIAS

- Alpuche-Aranda C, Avila-Figueroa C, Espinoza-De los Monteros L, Gómez-Barreto D, Santos-Preciado JI. Patrón de sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en un hospital pediátrico: prevalencia de resistencia a meticilina. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1989;46:700-04.
- Archer GL, Tenenbaum MJ. Antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis* in patients undergoing cardiac surgery. Antimicrob. Agents Chemother. 1980;17:269-72.
- Archer GL. Antimicrobial susceptibility and selection of resistance among *Staphylococcus epidermidis* isolates recovered from patients with infections of indwelling foreign devices. Antimicrob. Agents Chemother. 1978;14:353-9.
- Barret FF, McGeehae RF, Finland M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston city hospitals. Bacteriologic and epidemiologic observations. N. Engl. J. Med. 1968;279:442-8.
- Benner EJ. Growing clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 1968; 2:741-4.
- Bouvet A, Fournier JM. Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 1990;28:1338-41.
- Boutonnier A, Nat F, Bouvet A, Lebrun L, Audurier A, Mazie JC. Direct testing of blood cultures for detection of the serotype 5 and 8 capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 1989;27:969-93.
- Boyce JH, Causey WA. Increasing occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United-States. Infect. Control 1982;3:377-83.
- Boyce JH, White R, Spruill EY. Impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the incidence of nosocomial staphylococcal infection. J. Infec. Dis. 1983; 148:763
- Calderón-Jaimes E, Solórzano-Santos F, Conde-González C, Echaniz-Avilez G, Arredondo-García JL, Reyes-Bolio JM. Septicemia neonatal por *Staphylococcus epidermidis*. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1987; 44:511-20.
- Costerton JW, Irving RT. The bacterial glycocalyx in natura and disease. Annu. Rev. Microbiol. 1981;35:299-324.
- Coudron PE, Jones D, Dalton HP, Archer GL. Evaluation of laboratory test for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. J. Clin. Microbiol. 1986; 24:764-69.
- Craven DE, Reed C, Kollisch N, De Maria A, Lichtenberg D. A large outbreak of infections caused by a strain of *Staphylococcus aureus* resistant to oxacillin and aminoglycosides. Am. J. Med. 1981; 71:53-8.
- Crossley K, Loesh D, Lendesman B, Mead K, Chern H, Strate R. An outbreak of

- infections caused by strains of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides. 1. Clinical Studies. *J. Infect. Dis.* 1979; 139:273-9.
- Crossley K, Landesman R, Zaske D. An outbreak of infections caused by strains of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides. 11. Epidemiological Studies. *J. Infect. Dis.* 1979; 139:280-7.
- Chambers HF, Hartman BJ, Tomaz A. Increased amounts of a novel penicillin binding protein in a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to nafcillin. *J. Clin. Invest.* 1985;76:325-31.
- Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 1988;1:173-86.
- Christensen GD, Bisno AL, Parisi JT, McLaughlin B, Hester MG, Luther RW. Nosocomial septicemia due to multiple antibiotic resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Ann. Intern. Med.* 1982; 96:1-10.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barret FF, Melton DM. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.* 1985;22:996-1006
- Christensen GD, Baddour LM, Hasty DL, Lowrance JH, Simpson WA. Microbial and foreign body factors in the pathogenesis of medical device infections. In: Infections associated with indwelling medical devices. Ed. Bisno AL, Wadvogel FA. American Society for Microbiology, Washington DC. 1989:27-57.
- Christensen GD, Parker LP, Mawhinney TP, Baddour LM, Simpson WA. Identification of an antigenic marker of slime production for *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.* 1990;58:2906-11.
- Christensen GD, Baddour LM, Madison BH, Parisi JT. Colonial morphology of staphylococci on Memphis agar: phase variation of slime production, resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics and virulence. *J. Infect. Dis.* 1990;161:1153-69.
- Dalifuku R, Stam WE. Association of rectal and urethral colonization with urinary tract infection in patients with indwelling catheters. *JAMA.* 1984;252:2023-30.
- Daum TE, Schamberg DR, Terpenning MT, Sottile WS, Hautman CA. Increasing resistant of *Staphylococcus aureus* to ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990;34:1862-3.
- Davis WG, White CE. Cloxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Children's Hospital. *S. Afr. Med. J.* 1974; 48:341-4.
- Diaz-Mitoma, Harding GK, Hoban DJ, Roberts RS. Clinical significance of a test for slime production in ventriculo-peritoneal shunt infections caused by coagulase-negative staphylococci. *J. Infect. Dis.* 1987;156:555-60.
- Donowitz GR, Mandell GL. Acute pneumonia. En Mandell GL. Principles and practice

- of infectious disease. A Wiley Medical Publication, USA. 1979;489-502.
- Drewry DT, Galbraith L, Wilkinson BJ. Staphylococcal slime: a cautionary tale. *J. Clin. Microbiol.* 1990;26:1292-6.
- Edberg SC, Sabath LD. Determination of antibiotic levels in body fluids: techniques and significance. Bactericidal tests in endocarditis and other severe infections. En Lorian U. Antibiotics in laboratory medicine. The Williams and Wilkins company, USA. 1981:223-5.
- Elek SD, Levy E. Distribution of haemolysins in pathogenic and non-pathogenic staphylococci. *J. Pathol. Bacteriol.* 1950;62:541-54.
- Engel HW, Soedirman N, Rost JA, van Leewen WJ, van Embden JD. Transferability of macrolide, lincomycin, and streptogramin resistances between group A, B, and D streptococci, *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 1980;142:407-11.
- Eykin SJ. Staphylococcus sepsis. The changing pattern of disease and therapy. *Lancet* 1983;1:100-4.
- Farber BP, Kaplan MH. *Staphylococcus epidermidis* extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptide antibiotics. *J. Infect. Dis.* 1990;161:37-40.
- Fitzgerald RH, Kelly PJ. Infections of skeletal system. En Simmons RL. Surgical infections. Prentice Hall Inc. USA. 1982:1017
- Forbes BA, Schaberg DR. Transfer of resistance plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: evidence for conjugative exchange of resistance. *J. Bacteriol.* 1963;153:627-34.
- Forse RA, Dixon C. *Staphylococcus epidermidis*: an important pathogen. *Surgery* 1979;86:507-14.
- French GL, Ling J, Ling T, Hwi YW. Susceptibility of Hong-Kong isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 21:581-8.
- Gardner P, Leipzig T, Phillips P. Infecciones en sistemas derivativos del sistema nervioso central. En clinicas médicas de norteamérica. Ed. Interamericana, México. 1985:319-37.
- Garibaldi RA, Burque JP, Dickman ML, Smith CB. Factors predisposing to bacteriuria during indwelling urethral catheterization. *N. Engl. J. Med.* 1974;291:215-9.
- Georgopapadakow NH, Dix BA, Mauriz YR. Possible physiological functions of penicillin-binding proteins in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986;29:333-6.
- Good JT, Taryle DA, Maulitz RH, Kaplan RL, Shan SA. The diagnostic value of pleural fluid pH. *Chest* 1980;55-9.
- Graham D, Correa-Villaseñor A, Anderson RL, Vollman JH. Epidemic neonatal gentamicin-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection

- associated with nospecific topical use of gentamicin. *J. Pediatrics* 1980;97:972-8.
- Guiguet M, Rekacewicz C, Leclercq B, Brun Y, Escudier B, Andremont A. Effectiveness of simple measures to control an outbreak of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an intensive care unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1990;11:23-6.
- Guiscafré-Gallardo H, Trejo y Pérez JA. Infecciones estafilocócicas. En González-Saldaña N. *Infectología clínica*. Ed. Trillas, México 1985: 557-69.
- Haley RW, Higtower AW, Khabbaz RF. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in United States hospitals: possible role of the house-staff transfer circuit. *Ann. Intern. Med.* 1982;97:308
- Hackbarth CJ, Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci: genetics and mechanisms of resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989;33:991-4.
- Hartman BJ, Tomaz A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986;29:85-92
- Hébert GA, Hancock GA. Sinergistic hemolysis exhibited by specie of staphilococci. *J. Clin. Microbiol.* 1985;22:409-15
- Hermann M, Vaudaux PE. Fibrinectin, Fibrinogen and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. *J. Infec. Dis.* 1988;158:693-701.
- Hinshaw HC. *Enfermedades del tórax*. 4a edición. Ed. Interamericana, México 1985:695-704.
- Hochkappel HK, Braun DG, Vischer W, Imm A, Sutter S, Staebli U. Serotyping and electron microscopy studies of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with monoclonal antibodies to capsular polysaccharide type 5 and 8. *J. Clin. microbiol.* 1987;25:526-30.
- Hovellius B, Mardh PA. *Staphylococcus saprophyticus* as a common cause of urinary tract infections. *Rev. Infect. Dis.* 1984;328-37.
- Ishak MA, Groschel DH, Mandel GL, Wenzel RP. Association of slime with pathogenicity of coagulase-negative staphylococci causing nosocomial septicemia. *J. Clin. Microbiol* 1985;22:1025-9.
- Jaffe HW, Sweeney HM, Nathan C, Weinstein RA, Kabins SA, Cohen S. Identity and interspecific transfer of gentamicin resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infec. Dis.* 1983;738-47.
- Jevons MP. Celbenin-resistant staphylococci. *Br. Med. J.* 1961;1:124-5
- Johnson GM, Lee DA, Regelman WE, Gray ED, Quie PG. Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* slime. *Infect. Immun.* 1986;54:13-20.
- Jones RM, Barry AL, Gavan TL, Washington JA. Susceptibility tests: microdilution

- and macrodilution broth procedures. En Lennete EH. Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology, Washington DC., 1985; 967-71.
- Jorgensen JH. Laboratory and epidemiologic experience with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in USA. Eur. J. Clin. Microb. 1986; 5:693-6
- Karchner AW, Archer GL, Dismukes WE. *Staphylococcus epidermidis* causing prosthetic valve endocarditis: microbiologic and clinical observations as a guides to therapy. Ann. Intern. Med. 1983;98:447-55.
- Kasimir S, Schonfeld W, Alouf JE, Koning W. Effect of *Staphylococcus aureus* delta toxin on human granulocyte functions and platelet-activating-factor metabolism. Infect. Immun. 1990;58:1653-9.
- Kayser FH. Methicillin-resistant staphylococci. 1965-75. Lancet 1975;2:650-2.
- Kerr S, Kerr E, Mackintosh CA, Marples RR. A survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* affecting patients in England and Wales. J. Hosp. Infect. 1990; 16:35-48.
- Khan JA, Hoover D, Ide CH. Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* blepharitis. Am. J. Ophthalmol. 1984;98:562-5.
- Klimex JJ, Marsik FJ, Bartlett RC, Weir B, Shea P, Quintiliani R. Clinical, epidemiological and bacteriologic observations of an outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* at a large community hospital. Am. J. Med. 1976;61:304-5
- Kloos WE. Natural populations of the genus staphylococcus. Annu. Rev. Microbiol. 1980;34:559-92.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell UR, Sommers HM. Diagnóstico microbiológico. Ed. Panamericana, 1989;291-6
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR. Color atlas and textbook of Diagnostic Microbiology. Third edition. Ed. Lippincott, 1988:311-23.
- Koronflesh MW, Wilkinson BJ. Effects of growth of methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* in the presence of  $\beta$ -lactams on peptidoglycan structure and susceptibility to lytic enzymes. Antimicrob. Agents Chemother. 1986;29:250-7.
- Kotilainen P, Nikoskelainen J, Hvoivinev P. Emergence of ciprofloxacin-resistant coagulase-negative staphylococcal skin flora in immunocompromised patients receiving ciprofloxacin. J. Infec. Dis. 1990;161:41-4.
- Lacey RW. Antibiotic resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance. Bacteriol. Rev. 1975;39:1-32
- Lowy FD, Hammer SM. *Staphylococcus epidermidis* infections. Ann. Intern. Med. 1983;99:834-9.
- Locksley RM, Cohen M, Quin TC. Multiple antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: introduction, transmission and evolution of nosocomial infection. Ann. Intern. Med. 1982;97:317-24.

- Maki DG, Weisse CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter-related infection. *N. Engl. J. Med.* 1977;296:1305-9
- Maki DG. Skin as a source of nosocomial infection: directions for future research. *Infect. Control* 1986;7:113-7.
- McDougal LK, Thornsberry C. The role of  $\beta$ -lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J. Clin. Microbiol.* 1986;23:832-9.
- Morán-Rosas EA. Aislamiento e identificación de estafilococo coagulasa negativo en urocultivos. Tesis de posgrado QBP, 1986.
- Murakami K, Tomasz A. Involvement of multiple genetic determinants in high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 1989;171:874-9
- National Committee for Clinical Laboratory Standards 1985. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Tentative standard M7T. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa.
- Noble W. Skin as a source for hospital infection. *Infect. Control* 1986;7:111-2.
- Novick RP, Morse SI. In vivo transmission of drug resistance factors between strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Exp. Med.* 1967;125:45-59.
- O'Toole RD, Drew WL, Dahlgren BJ, Beatty HN. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Observations in hospital and nursing home. *JAMA* 1970; 213:257-63.
- Peters G, Locci R, Pulverer G. Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *J. Infect. Dis.* 1982;146:479-82.
- Pfaller MA, Herwaldt L. Laboratory, clinical and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 1988;1:281-99.
- Ponce de León S. Manual para el control de las infecciones nosocomiales, 1985.
- Ponce de León S. The needs of developing countries and the resources required. *J. Hosp. Infect.* 1991;18:376-81.
- Powell M, Sanderson PJ. Resistant coagulase-negative staphylococci in hospital patients. *J. Hosp. Infect.* 1987;9:48-53.
- Rhinehart E, Shlaes DM, Keys TF. Nosocomial clonal dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Elucidation by plasmid analysis. *Ann. Intern. Med.* 1987;521-4
- Richmond AS, Simberkof MS, Schaeffler S, Rahal JJ. Resistance of *Staphylococcus aureus* to semisynthetic penicillins and cephalothin. *J. Infect. Dis.* 1977;135:108-11
- Ridley M, Barrie D, Lynn R, Stead KC. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* and hospital-antibiotic policies. *Lancet* 1970;1:230-3.
- Sahn DF, Washington JA. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. *En*

- Balow A. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington DC., 1991: 1105-1116.
- Saravolatz LD, Pohlod DJ, Ariling LM. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a new source for nosocomial outbreaks. *Ann. Inter. Med.* 1982;97:325-9
- Schaeffler S, Jones D, Perry W, Baradet T. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in New York-city hospitals: inter-hospital spread of resistant strains of type 88. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:536-8.
- Scheifele DW, Bjornson GL. Delta toxin activity in coagulase-negative staphylococci from the bowels of neonates. *J. Clin. Microb.* 1988;279-82.
- Schleifer KH, Kroppenstedt RM. Chemical and molecular classification of staphylococci. *J. Appl. Bacteriol.* 1990;9-24.
- Schlesselman JJ. Case control studies design, conduct, analysis. New York Oxford University Press. 1982:145-70.
- Schwalbe RS, Stapleton JT, Gilligan PH. Emergence of vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci. *N. Engl. J. Med.* 1987;316:927-31.
- Schwalbe RS, Ritz WJ, Verma PR, Barranco EA, Gilligan PH. Selection for vancomycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus haemolyticus*. *J. Infect. Dis.* 1990;161:45-51.
- Shalit I, Berger SA, Gorea A, Frimerman H. Widespread quinolone resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a general hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989;33:593-4
- Shlaes DM, Banczewski B. Enterococcal resistance to vancomycin and related cyclic glycopeptide antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1990;9:106-10.
- Smith IM. *Staphylococcus aureus*. En Mandel GL.: Principles and Practice of Infectious Disease. A Wiley Medical Publication, USA. 1979; 1530-52.
- Sorrel TC, Dackham DR, Shanker S, Foldes M, Munro M. Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 1982;97:344-50
- Stephen S, Pietrowski RA. Bacterial toxins. Second edition; American Society for Microbiology, Washington DC. 1986: 77-87.
- Stewart GT, Holt RJ. Changes in sensitivity of staphylococci to methicillin. *Br. Med. J.* 1961;1:863-6.
- Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Molec. Microbiol.* 1989;3:1669-83.
- Thauvin C, Rice LB, Eliopoulos GM, Moellering RC. Efficacy of oxacillin and ampicillin-sulbactam combination in experimental endocarditis caused by  $\beta$ -lactamase hiperproducing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990;34:729-32.

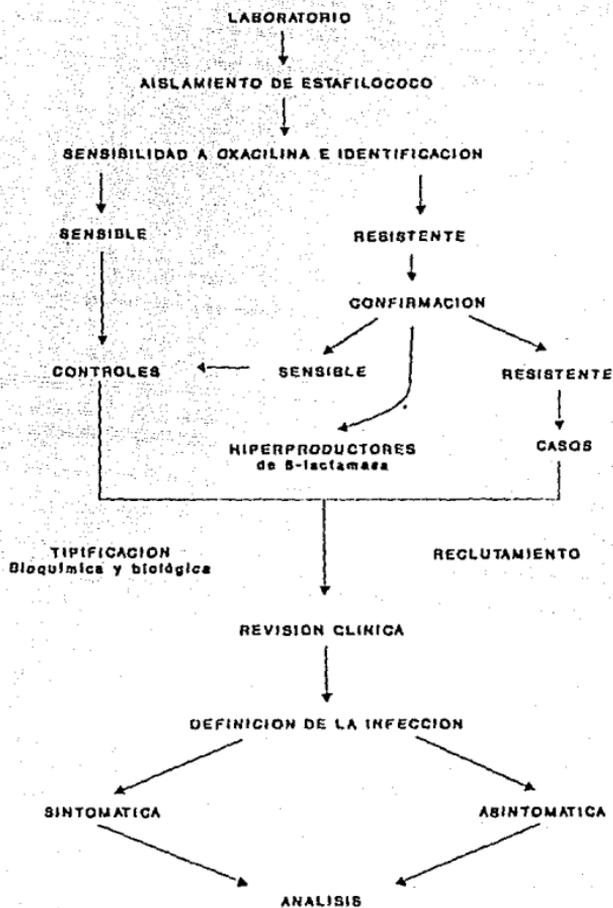
- Thompson RL, Cabezudo I, Wenzel RP. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 1982;97:309-17
- Thornsberry C, Dougal LK. Successful use of broth microdilution in susceptibility test for methicillin-resistant (heteroresistant), staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 1983;18:1094-91
- Thomasz A, Drugeon HB, Lencastre HM, Jabes D, McDougall L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: clinical isolations that lack the PBP2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob. Agents chemother.* 1989;33:1869-74.
- Townsend DE, Ashdon W, Bolton S, Bradley J, Duckworth G, Moorhouse EC. The international spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 1987;9:60-71.
- Townsend DE, Grubb WB, Ashdown N. Gentamicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathology* 1983;15:169-74
- Tuazon CH, Miller H. Clinical and microbiological aspects of serious infections caused by *Staphylococcus epidermidis*. *Scand. J. Infec. Dis.* 1983;15:347-60
- Wenzel RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains: modern hospital pathogens. *Infect. Control* 1986;7:118-9.
- Woods GL, Yam P. Bactericidal activity of oxacillin against B-lactamase-hyperproducing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988;32:1614-8

## 11. APENDICES

### 11.1. Questionario

NOMBRE DEL PACIENTE \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_  
REGISTRO \_\_\_\_\_ FECHA DE HOSPITALIZACION \_\_\_\_\_  
FECHA DE DETECCION DE LA INFECCION \_\_\_\_\_ PROCEDE DE OTRO  
HOSPITAL? \_\_\_\_\_ NOMBRE DEL HOSPITAL \_\_\_\_\_ PERIODO DE  
HOSPITALIZACION: \_\_\_\_\_ DIAGNOSTICO CON  
EL QUE INGRESA ACTUALMENTE \_\_\_\_\_  
ENFERMEDADES ASOCIADAS: INSUFICIENCIA CARDIACA \_\_\_\_\_ DIABETES  
MELLITUS \_\_\_\_\_ INSUFICIENCIA VASCULAR  
PERIFERICA \_\_\_\_\_ OTRAS \_\_\_\_\_  
USO DE ANTIBIOTICOS 4 SEMANAS ANTES DE ADQUIRIR LA INFECCION: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
FECHA \_\_\_\_\_ NOMBRE DEL ANTIBIOTICO \_\_\_\_\_ DOSIS/VIA \_\_\_\_\_ DURACION \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
PROCEDIMIENTOS INVASIVOS EFECTUADOS? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ TIPO DE PROCEDIMIENTO  
\_\_\_\_\_  
FECHA \_\_\_\_\_  
INFECCION SIMTOMATICA: CASO N° \_\_\_\_\_ CONTROL N° \_\_\_\_\_  
INFECCION ASINTOMATICA: CASO N° \_\_\_\_\_ CONTROL N° \_\_\_\_\_  
SITIO DE LA INFECCION  
HERIDA \_\_\_\_\_ ABSCESO \_\_\_\_\_ PULMON \_\_\_\_\_ PLEURA \_\_\_\_\_ TORRENTE  
SANGUINEO \_\_\_\_\_ PERITONEO \_\_\_\_\_ MENINGES \_\_\_\_\_ VIAS  
URINARIAS \_\_\_\_\_ HUESOS \_\_\_\_\_ ARTICULACIONES \_\_\_\_\_ ASOCIADA A  
CATETER IV \_\_\_\_\_ VIAS RESPIRATORIAS SUPERIORES \_\_\_\_\_  
OTRAS \_\_\_\_\_ INFECCION NOSOCOMIAL: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
ESPECIE DE ESTAFILOCOCO: \_\_\_\_\_ SUSCEPTIBILIDAD A OXACILINA:  
SENSIBLE \_\_\_\_\_ RESISTENTE \_\_\_\_\_ FENOTIPO DE  
RESISTENCIA: HOMOGENEA \_\_\_\_\_ HETEROGENEA \_\_\_\_\_ PRODUCTOR DE LINO: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
HEMOLISIS SINERGISTA: POSITIVA \_\_\_\_\_ NEGATIVA \_\_\_\_\_ AISLAMIENTO CONCOMITANTE DE  
OTRO GERME: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ NOMBRE \_\_\_\_\_

## FLUJOGRAMA DE TRABAJO



11.3. Antibiograma por microdilución. (Jones RN, 1985).

a). Preparación de la placa.

1. Se utilizaron placas de poliestireno estériles donde se colocó el medio de cultivo caldo MÜeller-Hinton (50 µl) a partir de la línea de pozos 2 y de la A a la H.

2. Se colocó el antibiótico en las líneas 1 y 2 y de la A a la H.

3. Se diluyó con el microdilutor a partir de los pozos 2 al 11, dejando la línea 12 para control de crecimiento. El dilutor se esterilizó en el mechero.

b). Preparación del antibiótico.

1). Se pesó el antibiótico según la concentración deseada (Peso = Volúmen x Concentración / Potencia).

2). El antibiótico se disolvió en el solvente ideal de acuerdo al Comité Nacional para los estándares del Laboratorio Clínico (NCCLS, 1985).

3). Se aforó el volúmen del antibiótico con agua desionizada estéril.

4). Se alicuotó la solución del antibiótico en tubos con tapón de rosca (aprox. 10 ml).

5). La solución del antibiótico se conservó de acuerdo a los lineamientos estándar internacionales (NCCLS, 1985).

c). Preparación del inóculo.

1. La muestra fue sembrada en una placa de gelosa sangre de carnero, estriando para lograr el aislamiento de UFC. Se incubó durante 24 h a 37°C.

2. Se inocularon de 2 a 3 UFC en 2 ml de caldo soya tripticasa o infusión cerebro corazón y se ajustó la turbidez al estándar 0.5 de MacFarland. Esto equivale a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.

3. Se tomaron 10  $\mu$ l de la suspensión anterior colocándolos en 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos (PBS). Esto dió una concentración aproximada de  $1.5 \times 10^6$  UFC/ml.

4. Se tomaron 50  $\mu$ l de la dilución anterior y se colocaron en cada uno de los pozos de la placa, en el lugar asignado al control o cepas problema. Esto equivale a  $7.5 \times 10^4$  UFC/pozo.

d). Incubación de las placas: las de oxacilina a 30°C durante 48 h, para los otros antibióticos a 35°C por 24 h.

e). Lectura: la concentración mínima inhibitoria fue la correspondiente a la máxima dilución del antibiótico en la cual no se observó desarrollo de la cepa probada.

f). Preparación del PBS.

NaCl	16.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.8 g
KCl	0.4 g
Agua desionizada	2.0 l
Ajustar pH	7.1
Esterilizar en autoclave 15 min/15 lb.	

g). Preparación del caldo Müller-Hinton suplementado.

1. Suplemento de Magnesio.

Se pesaron 8.36 g de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; disolviéndolos en 1 litro de agua desionizada. Se esterilizó por autoclave. Esta solución contenía 10 mg de  $Mg^{++}/ml$ . Se adicionaron 5 ml por litro de caldo.

2. Suplemento de calcio.

Se pesaron 3.68 g de  $Cl_2Ca \cdot 2H_2O$ . Se disolvieron en un litro de agua desionizada, esterilizándose. Esta solución contenía 10 mg de  $Ca^{++}/ml$ . Se agregaron 10 ml por litro de caldo.

Al caldo de Müller-Hinton que se utilizó para la oxacilina se le agregó NaCl al 4%, además de los suplementos de Ca y Mg.

11.4. Concentración mínima inhibitoria para otros antibióticos ( $\mu g/ml$ ) con actividad sobre estafilococo. (Sahm DF, 1991)

Antibióticos	SENSIBLE	RESISTENTE
Penicilina	$\leq 0.12$	$\geq 0.25$
Vancomicina	$\leq 4$	$\geq 32$
Eritromicina	$\leq 0.5$	$\geq 8$
Trimet/sulfam	$\leq 2/38$	$\geq 4/76$
Clindamicina	$\leq 0.5$	$\geq 4$
Amikacina	$\leq 16$	$\geq 64$
Ciprofloxacina	$\leq 1$	$\geq 4$
Tetraciclina	$\leq 4$	$\geq 16$
Gentamicina	$\leq 4$	$\geq 16$

11.5. Hetero/homorresistencia a meticilina.

a) Se trabajaron gérmenes con 24 h de desarrollo en gelosa sangre de carnero (fase logarítmica de crecimiento)

b) Utilizamos placas de agar soya tripticasa con y sin antibiótico (oxacilina 50 µg/ml).

c) Preparamos una suspensión bacteriana aproximada al estándar 2 de McFarland ( $3 \times 10^8$  UFC/ml).

d) Se tomaron 10 µl de la suspensión anterior adicionándolos a 990 µl de infusión cerebro corazón (BHI), para obtener una dilución de 1:100.

e) Se preparó una dilución 1:1000, tomando 100 µl de la dilución 1:100 y agregándolos a 900 µl de BHI.

f) Se sembró 1 µl (con asa calibrada) de la dilución bacteriana 1:100 ( $3 \times 10^6$  UFC) en una placa con oxacilina y de la dilución 1:1000 ( $3 \times 10^3$  UFC) en placa con y sin antibiótico.

g) Se incubó a 35°C durante 96 h.

h) Se realizó cuantificación de las UFC efectuando la siguiente operación: UFC de placa con antibiótico/UFC de placa sin antibiótico x 100.

11.6. Sinergismo oxacilina - ácido clavulánico. (Edberg SC, 1981).

a). Se prepararon soluciones concentradas de oxacilina (128 µg/ml) y ácido clavulánico (16 µg/ml). Este en solución amortiguadora de citrato 0.1 M, pH 6.5.

b). Preparación de la placa (tablero de ajedrez):

1. Se colocaron 50 µl de caldo Müeller - Hinton en las líneas de pozos B a la C y de la 2 a la 12, en una placa de microdilución.

2. Se aplicaron 50 µl de la solución de ácido clavulánico en los pozos A y B del 1 al 12.

3. Se colocó la solución de oxacilina en los pozos 1 y 2, de la A a la G.

4. Se efectuaron diluciones vertical y horizontalmente

5. Se diluyó en forma horizontal, a partir del pozo 2, la hilera H.

6. La preparación del inóculo fue igual que para la microdilución.

7. Se incubó a 30°C durante 48 h.

8. Lectura: la evidencia de una reducción de 3 títulos en la CMI a oxacilina con la combinación (oxacilina/ácido clavulánico) definió a los gérmenes hiperproductores de  $\beta$ -lactamasa.

11.7. Producción de limo (Koneman EW, 1988)

a. Se cultivó la cepa de ECN en una placa de agar sangre de carnero durante 48 h.

b. Se inoculó el germen en un tubo de cristal con 10 ml de caldo soya tripticasa.

c. Se incubó a 35°C durante 48 h.

d. Prueba positiva: evidencia de una capa mucoide adherida a la pared del tubo.

e. Las cepas control fueron el *S.epidermidis* ATCC 35983 (productor de limo) y el *S.hominis* ATCC 35982 (no productor de limo)

11.8. Hemólisis sinérgica (Hébert GA, 1985).

a). Se utilizaron tres placas de agar soya tripticasa con eritrocitos lavados de sangre desfibrinada al 5 % de ovino, bovino y humana.

b). Una cepa de *S.aureus* ATCC 25923 (productor de  $\beta$ -lisina) fue estriada medialmente y en forma perpendicular las cepas en estudio.

c). Se incubaron las placas aeróbicamente a 35°C durante 48 h.

d). Lectura: prueba positiva si se apreciaba una zona de hemólisis total dentro del área de hemólisis incompleta producida por la  $\beta$ -lisina, en los tres tipos de sangre.