



41
201

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

"ZARAGOZA"

EVALUACION DE LA RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus
AISLADOS DE PACIENTES CON O SIN INFECCION RESPIRA-
TORIA AGUDA (IRA) A PENICILINA, AMPICILINA, METICI-
LINA Y ACIDO CLAVULANICO - TICARCILINA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
MARIA DE LOURDES SALINAS CRUZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

	Pag.
INTRODUCCION	1
FUNDAMENTACION DEL TEMA	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
OBJETIVOS	30
HIPOTESIS	31
MATERIAL Y EQUIPO	32
METODO	35
RESULTADOS	52
DISCUSION	71
CONCLUSIONES	76
BIBLIOGRAFIA	79

INTRODUCCION

Staphylococcus es un género de bacteria que se incluye en el grupo de los cocos grampositivos que crecen formando racimos, del griego "Staphyle" racimo de uvas y "coccus" grano.

Roberto Koch en 1878 fué el primero en describir el estafilococo en pus humano. En 1880 Louis Pasteur los cultivo por primera vez. Ogston en 1881, demostró que algunos abscesos eran provocados por cocos agrupados en racimos, llamandoles Staphylococcus y un año después demostró que eran patógenos para el ratón y el cobayo (16). Rosenbach en 1884 clasificó a las especies de Staphylococcus en base al color de la colonia: una de color amarillo a naranja la cual corresponde a S. aureus y la otra de color blanco la cual corresponde a S. epidermidis.

Staphylococcus mide de 0.5 a 1.5 μm de diámetro y se encuentran solos, en pares, en tetradas o agrupados en racimos irregulares, inmóviles, no forman esporas, son catalasa positivo y no forman cápsula, aerobios y anaerobios facultativos y pueden crecer en altas concentraciones de sal (NaCl 15%). Producen pigmentos con colores desde el blanco, naranja ó amarillo hasta el dorado (19).

En la última edición del manual de Bergey la familia Micrococcaceae contiene los géneros: Micrococcus, Staphylococcus, Planococcus y Stomatococcus, el género Staphylococcus comprende

19 especies. En la 4a. edición del manual de microbiología clínica de la sociedad americana de microbiología se mencionan las especies de mayor interés medico Tabla No. 1 (31).

Staphylococcus aureus. Es la cepa tipo del género de mayor importancia médica. Las colonias son lisas, un poco convexas, brillantes y con los bordes enteros. La pigmentación de las colonias es variable la mayoría son de color naranja o amarilla. En condiciones aeróbicas y anaeróbicas producen ácido a partir de glucosa, lactosa, maltosa y manitol (31).

El estafilococo posee los siguientes componentes celulares: proteína A, capa de peptidoglicana, presencia de ácidos teicoicos. Figura No. 1 (19).

Los estafilococos producen gran variedad de metabolitos de significancia patológica como: hemolisinas alfa y delta, leucocidinas, toxina dermonecrótica, enterotoxinas, penicilinas, coagulasa, fosfatasa, hialuronidasa, desoxirribonucleasa y fibrinolisisina (19, 31).

En los pacientes que desarrollan infecciones estafilocócicas, en ellos se ha observado tener problemas en los mecanismos de resistencia del huésped. La tabla No. 2 presenta un grupo de factores que predisponen a la infección estafilocócica (12).

La propagación del Staphylococcus aureus se lleva a cabo por contagio directo de un individuo de la comunidad, como paciente o personal del hospital con infección estafilocócica a otro que actúa como portador o a través del aire u objetos contaminados Diagrama No. 1 (12, 57).

La puerta de entrada puede ser la piel donde produce: celulitis, pústula, abscesos, carbunco, impétigo o a través de las mucosas donde puede producir infecciones respiratorias agudas (IRA) ó bien en portadores donde coloniza en forma asintomática Tabla No. 3 (6, 30).

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen un importante problema de Salud Pública por su alta morbilidad y mortalidad (42); así mismo desde el punto de vista socioeconómico, debido al gran ausentismo en escuelas y centros de trabajo, es el principal motivo de consulta en todos los países (30), por estas razones, es importante hoy en día hacer el diagnóstico oportuno de IRA (17).

La clasificación de las IRA se hace en función del síndrome clínico y no del agente causal. Las IRA se dividen en dos grupos principales: Infecciones del tracto respiratorio superior y las del tracto respiratorio inferior; sin embargo, con frecuencia tanto el tracto respiratorio superior como en el inferior se ven afectados de manera simultánea o consecutivamente (44).

Las IRA se pueden clasificar en leves, moderadas y graves en base a los signos y síntomas fácilmente identificables en cuanto al manejo de los pacientes (25,41).

Predominan las infecciones respiratorias superiores, siendo la mayoría de carácter leve y se limitan a resfriados comunes y faringitis moderadas (1,35,51). La mayor parte de los casos se presentan en las edades comprendidas entre 1 y 14 años (18). La incidencia está inversamente relacionada con la edad, presentándose un pico de 8 a 9 episodios por año en los dos primeros años de la vida y decrece progresivamente hasta presentar 3 a 4 episodios por año de los 3 a los 5 años. En la etapa escolar nuevamente sufre un aumento debido al incremento de amigdalitis estreptocócica (23, 45).

Entre las bacterias que con mayor frecuencia se asocian en forma secundaria a IRA están: Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus y enterobacterias como agentes secundarios (40).

Staphylococcus aureus pueden producir infecciones del tracto respiratorio superior como: Sinusitis, amigdalitis aguda, faringitis, rinofaringitis (6, 11, 22, 30) e infecciones del tracto respiratorio inferior como neumonía (29, 43).

Streptococcus pyogenes produce infecciones del tracto

respiratorio superior como: Sinusitis, faringoamigdalitis, rinofaringitis (22, 30).

En las infecciones respiratorias agudas (IRA) se agrega otro problema importante, el manejo inadecuado que se hace de ellas y del uso indiscriminado de los antibióticos, que sin ninguna utilidad clínica son prescritos por el personal de salud o la medicación por la misma población (autoprescripción) general, como consecuencia de la falta de información adecuada (24).

En México se está elaborando un programa de control de las IRAs en niños menores de cinco años, en el cual el tratamiento se basa en la clasificación de estas, de acuerdo a la presencia o ausencia de algunos síntomas o signos específicos Figura No. 2 (34, 41).

En el caso de la faringitis causada por Streptococcus pyogenes, el tratamiento de elección es la penicilina administrada en tal forma que se alcancen niveles terapéuticos durante diez días con el fin de erradicar el agente etiológico (4, 22, 30).

En pacientes que presentan cuadros recidivantes de faringitis estreptocócica, se ha planteado la posibilidad de que bacterias aerobias y anaerobias como: Staphylococcus aureus, Bacteroides melaninogenicus, Bacteroides oralis productoras de

betalactamasas o penicilinasas (inhiben la actividad biológica de la penicilina) evitan la erradicación del estreptococo (22, 58).

Este trabajo forma parte del Estudio para la Evaluación del Diagnóstico y Tratamiento de las Infecciones Respiratorias Agudas en pacientes de primer nivel de atención de la Consulta Externa de la U.M.F. No. 28 "Gabriel Mancera" IMSS. En el cual se pretende determinar el patrón de resistencia de Staphylococcus aureus aislados de pacientes con o sin infección respiratoria aguda (IRA) a penicilina, ampicilina, meticilina y ácido clavulánico-ticarcilina y su relación con la resistencia al producir betalactamasa (penicilinasas).

TABLA No. 1

DIFERENCIACION DE LAS ESPECIES DEL GENERO Staphylococcus

CARACTERISTICAS	<u>S. AUREUS</u>	<u>S. EPIDERMIDIS</u>	<u>S. CAPITIS</u>	<u>S. HARNERI</u>	<u>S. HAEMOLYTICUS</u>	<u>S. HOMINIS</u>	<u>S. SAPROPHYTICUS</u>	<u>S. SIMILANS</u>	<u>S. XYLOSUS</u>	<u>S. COHNII</u>
DIAMETRO DE LA COLONIA (5MM),	+	-	-	D	+	-	+	+	+	+
CREC. EN ANAEROBIOISIS.	+	+	+	+	+	-	+	+	D	D
COAGULASA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEMOLISIS	+	-	-	D	-	-	-	+	-	- ¹
REDUCCION DE NITRITOS	+	+	D	-	D	D	-	-	-	-
FOSFATASA	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RESISTENCIA A LA NOVOBIOCINA	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
PRODUCCION DE AC. AEROBICAMENTE										
MALTOSA	+	+	-	+	+	D	+	-	+	+
D-TRIALOSA	+	-	-	+	+	-	D	+	+	-
D-MANITOL	+	-	+	D	D	-	-	+	+	-
XILITOL	-	-	-	-	-	-	D	+	+	-
D-RIBOSA	+	D	-	D	D	D	-	D	+	+
LACTOSA	+	D	-	D	D	+	D	D	D	-
D-FRUCTOSA	+	+	+	+	D	+	+	+	D	D
LISOSTATINA	-	+	+	+	+	D	+	-	-	-

D : 11 A 80 X DE CEPAS POSITIVAS.

TABLA No.2
FACTORES PREDISPONENTES A LA INFECCION POR
Staphylococcus aureus

- 1.- Daño a la piel normal, por ejemplo, abrasivos, traumatismos y heridas quirúrgicas, quemaduras, afecciones primarias en la piel.
- 2.- Previas infecciones virales, por ejemplo., influenza, sarampión.
- 3.- Defectos en la función de los leucocitos
 - a.- Disminución de los leucocitos por ejemplo., leucopenia congénita o adquirida, drogas inmunosupresoras.
 - b.- Defectos en la quimiotaxis.
 - c.- Defectos en la fagocitosis o facilidad de éste proceso por las opsoninas u otros factores del suero.
 - d.- Defectos en la destrucción intracelular por ejemplo., la enfermedad granulomatosa crónica.
- 4.- Deficiencia en la inmunidad humoral.
- 5.- Presencia de objetos extraños en el cuerpo por ejemplo., cateter intravenoso suturas.
- 6.- Uso previo de antibióticos profilácticos o terapéuticos a los que Staphylococcus aureus no es sensible.
- 7.- Diversas enfermedades en las cuales no estan bien entendidos los defectos en la resistencia del huésped, por ejemplo., diabetes mellitus, alcoholismo, mucoviscidosis, enfermedad arterial coronaria, varios tumores malignos, uremia.

TABLA No. 3
SECUENCIA PATOGENICA DE LA INFECCION POR
Staphylococcus aureus (12)

SITIO CON INFECCION LOCALIZADA
SINTOMATICA O CON COLONIZACION
ASINTOMATICA

INFECCIONES CONTIGUAS

- 1.- Piel
- 2.- Ojo
- 3.- Nariz y garganta
- 4.- Gastrointestinal
- 5.- Uretra
- 6.- Vagina

Carbuncos, abscesos subcutáneos, osteomielitis, artritis (lesión aguda de la piel).

Infecciones orbitales graves

Sinusitis, abscesos en amígdalas o retrofaringeos, otitis media (rara), mastoiditis, bronquitis, neumonía - estafilocócica primaria, - parotiditis

Enterocolitis

Cistitis, pielonefritis ascendente (rara), prostatitis, abscesos prostáticos.

Cervicitis, salpingitis, abscesos pélvicos.

Puede extenderse por contiguidad

Puede progresar a bacteriemia.

FUENTE DESCONOCIDA

Bacteriemia
Puede ser sintomática o asintomática o causar la muerte.

CONTAMINACION POR UN CUERPO EXTRANO

Sitios infectados por metástasis.

1. Huesos y conexiones
2. Pulmones-neumonía sec. por S. aureus
3. Piel y músculos-abscesos
4. Corazón
5. Riñon-abscesos
6. SNC-abscesos
7. Otros

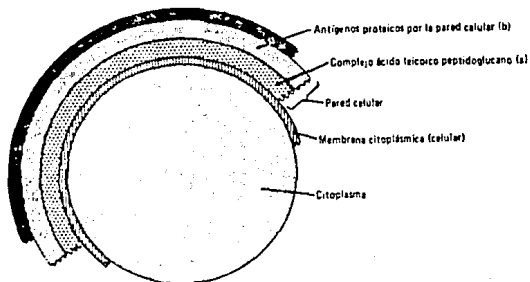
Pueden abarcar sitios metastásicos

Introducción directa en la corriente sanguínea o sistema cardiovascular, por ejemplo cateter intravenoso, válvulas artificiales del corazón, inyección de narcóticos contaminados.

Los sitios metastásicos luego pueden pasar a ser focos importantes para continuar la bacteriemia.

FIGURA No. 1

ESTRUCTURA ANTIGENICA DE LOS ESTAFILOCOCOS.



TOMADO DE: EASMON Y COL.¹⁹ (1963)

DIAGRAMA No. 1
CICLO EPIDEMIOLOGICO DEL Staphylococcus aureus
EN EL HOSPITAL Y EN LA COMUNIDAD (12)

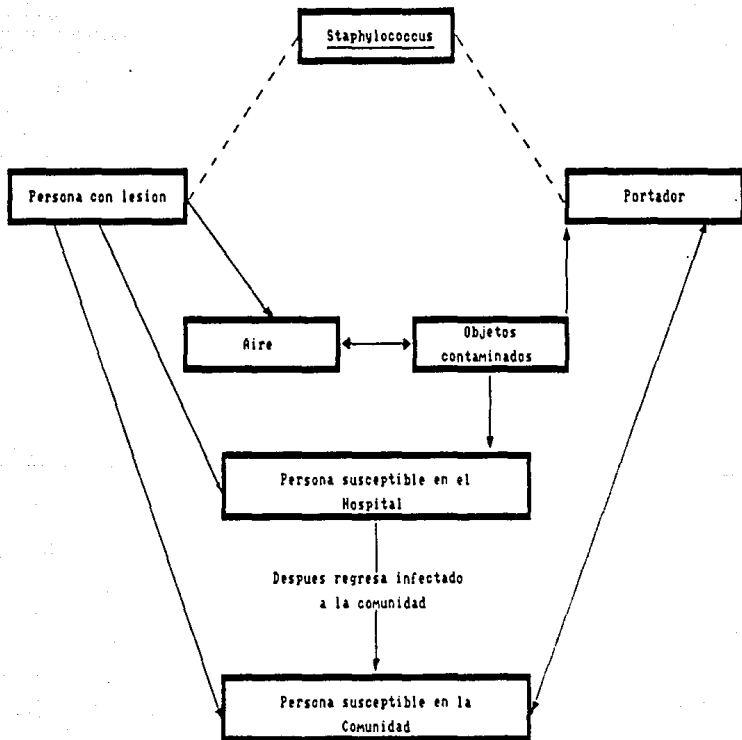
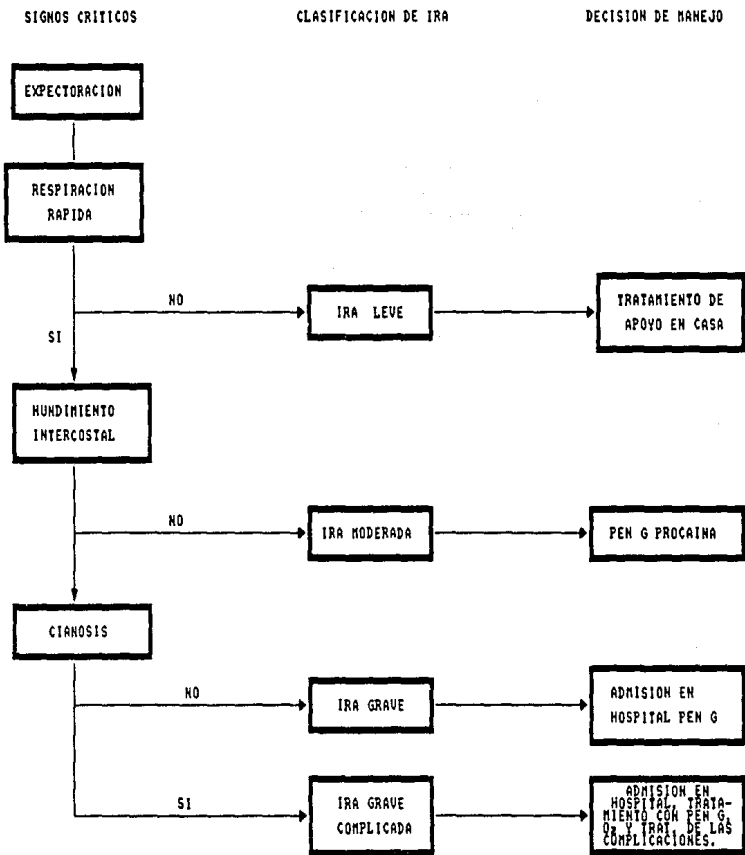


FIGURA No. 2
CLASIFICACION DE IRA ORIENTADAS AL MANEJO (41)



FUNDAMENTACION DEL TEMA

El uso indiscriminado de los antimicrobianos en la clínica especialmente en infecciones adquiridas en los hospitales ha sido un factor determinante en la aparición e incremento de la resistencia bacteriana (7).

En años recientes ha habido un incremento dramático en la incidencia de infecciones asociadas en hospitales causadas por cepas de Staphylococcus aureus que son resistentes a múltiples antibióticos (33).

La terapia con penicilina se emplea desde principios de los 40s y universalmente ha sido efectiva. A los pocos años de la aparición de la penicilina fueron reportadas cepas resistentes a este antibiótico (3). La introducción sucesiva de estreptomycin, tetraciclina, cloranfenicol y los macrolidos, fué similarmente acompañada por la aparición de organismos resistentes (46, 54). Las cepas que adquirieron resistencia a estos nuevos antibióticos fueron también usualmente resistentes a la penicilina por la producción de enzimas que se conocen como betalactamasas (penicilinasas).

La introducción de penicilinas betalactámicas resistentes a la acción de las betalactamasas, semisintéticas tales como: meticilina y oxacilina trajo como consecuencia una disminución

general en la prevalencia de S. aureus multiresistentes durante los primeros años de los 60s (54). Pero al final de los 60s y principios de los 70s, se aislaron cepas resistentes a los antibióticos betalactámicos semisintéticos con una creciente frecuencia en un número de países (50).

Durante los últimos años de la década de los 70s y ha principios de los 80s, se describieron cepas de S. aureus resistentes a múltiples antibióticos incluyendo meticilina y gentamicina que fueron responsables de brotes de infecciones hospitalarias (53).

Staphylococcus resistentes a antibióticos en los 40 últimos años se considera como una inevitable respuesta genética hacia la presión selectiva del medio impuesta por la terapia antimicrobiana. La aparición inmediata de resistencia después de la introducción de un antibiótico al uso clínico ilustra la potencialidad de las poblaciones microbianas para adaptarse rápidamente a cambios en su medio ambiente (52).

La primera vez que se describió la resistencia a antibióticos entre bacterias, incluyendo S. aureus, se creyó que el fenómeno estaba mediado únicamente por mutación y selección (52). Durante la últimas dos décadas se ha acumulado evidencia que indica que en muchos casos la resistencia a los agentes antimicrobianos en los Staphylococcus como en otras bacterias gramnegativas es

debida a la presencia de plásmidos que llevan consigo los determinantes genéticos de resistencia (21, 47).

El intercambio genético de determinante de resistencia antimicrobiana entre organismos de la misma o diferente especie juega una parte crucial en la evolución de las bacterias antibiótico-resistente (52). Existen varios mecanismos para la transferencia de material genético entre Staphylococcus. Estos son los procesos tradicionales de transformación, transducción y conjugación (33).

La transformación genética, consiste en que el DNA desnudo proveniente de una bacteria donadora, se adsorba en la superficie de la bacteria receptora y posteriormente pase al citoplasma.

En la transducción hay transferencia de DNA cromosómico o extracromosómico por medio de un bacteriófago.

En la conjugación, se requiere el contacto directo entre la bacteria donadora y la receptora. Los genes que codifican para que se efectúe este proceso se encuentran en plásmidos y no en el cromosoma.

Los antibióticos betalactámicos o penicilinas. Este grupo de antibióticos posee una característica común en la estructura

química, un anillo tiazolidíco unido a un anillo betalactámico (Figura No. 3) a los que se les unen cadenas laterales que son responsables de muchas de las propiedades farmacológicas y antimicrobianas. La región activa en todos ellos esta localizada en los anillos betalactámicos (10). En la Tabla No. 4 se muestra la clasificación de las diferentes penicilinas.

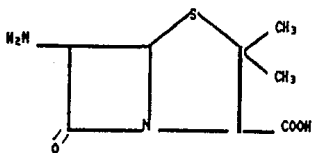
Los antibióticos betalactámicos producen un efecto bactericida por inhibición de las enzimas unidas a membranas responsables para catalizar las etapas vitales en la biosíntesis de la pared celular. Tal inhibición es el resultado directo de la unión covalente de los antibióticos a una o mas enzimas sensibles a la penicilina llamadas proteínas unidoras de penicilina (PBPs) (20, 49, 55).

Hay tres mecanismos moleculares significativos de resistencia a los antibióticos Betalactámicos en S. aureus.

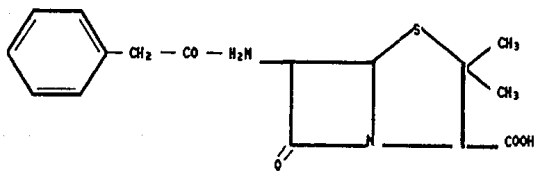
1o. Inactivación de penicilina a través de betalactamasas o hidrólisis mediada por penicilinasas del anillo betalactámico del antibiótico (10, 13).

2o. La resistencia intrínseca a metilina, el cual es igualmente efectivo contra penicilinas sensibles a betalactamasa, involucra una disminución de la afinidad o de la cantidad de las PBPs que acarrea el antimicrobiano a su sitio blanco (32).

FIGURA No. 3



Acido 6-Aminopenicilánico.



Penicilina G.

TABLA No. 4

CLASIFICACION DE LAS PENICILINAS

PENICILINAS NATURALES

PENICILINA G

PENICILINA V

PENICILINA DE AMPLIO ESPECTRO

AMPICILINA

BACAMPICILINA

AMOXICILINA

CICLACILINA

HETACILINA

ISOXAZOLIL PENICILINAS

CARBOXIPENICILINAS

METICILINA CLOXACILINA

CARBENICILINA

NAFCILINA DICLOXACILINA

TICARCILINA

OXACILINA FLOXACILINA

PENICILINA DE CUARTA GENERACION

AZLOCILINA

PIPERACILINA

MEXLOCILINA

3o. La tolerancia debida a la diferencia entre la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los antibióticos betalactámicos.

La reacción básica de una betalactamasa con una penicilina es hidrolizar la ligadura amida cíclica del núcleo de la penicilina (Figura No. 4) provocando la producción de peniciloatos bacterianamente inactivos (14).

Las betalactamasas se caracterizan por sus perfiles de inhibición y sustrato, por el peso molecular, diferencias inmunológicas y, en especial, por sus puntos isoeléctricos (26).

Las betalactamasas pueden clasificarse por esquemas distintos. En la Tabla No. 5 se muestra la clasificación mas comúnmente utilizada, la Richmond-Sykes (26).

En la Tabla No. 6 se muestra un esquema de la clasificación general de las betalactamasas. El subtítulo en cada grupo esta incluido para indicar especificidad del sustrato y susceptibilidad a inhibición por ácido clavulánico (8).

Grupo 1 Betalactamasas. subtítulo CEP-N, son enzimas que preferentemente hidrolizan cefalosporinas y no son inhibidas por ácido clavulánico (10 μ M).

Grupo 2 Betalactamasas incluyen una variedad de enzimas que son todas inhibidas por ácido clavulánico.

Grupo 2a subtítulo PEN-Y, betalactamasas inhibidas por ácido clavulánico, incluye muchas de las betalactamasas de organismos grampositivos.

Grupo 2b son las tradicionales betalactamasas de amplio espectro, BDS-Y. Grupo 2b', EBS-Y, incluye muchas betalactamasas relacionadas con el grupo 2b pero con la habilidad para hidrolizar antibióticos betalactámicos de amplio espectro con mayor acción, tal como cefotaxima, ceftazidima.

Grupo 2c, CAR-Y, y 2d, CLX-Y, incluye aquellas penicilinasas que también hidrolizan carbenicilina ó cloxacilina.

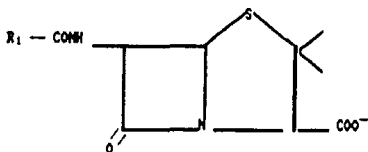
Grupo 2e, CEP-Y, incluye un grupo único de cefalosporinasas que son inhibidas por ácido clavulánico y penicilinasas semejantes en propiedades inmunológicas.

Grupo 3, MET-N, son las betalactamasas que requieren un ión metálico para la actividad enzimática; todas aparentemente no son inhibidas por ácido clavulánico.

Grupo 4, PEN-N, incluye una variedad de penicilinasas que no son inhibidas por ácido clavulánico.

FIGURA No. 4

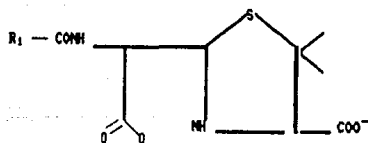
REACCION BASICA DE UNA BETA-LACTAMASA.



Penicilina



Beta-Lactamasa



Acido Peniciloico.

TABLA No. 5
CLASIFICACION DE BETALACTAMASAS (26)

Tipo I

Enzimas activas principalmente contra cefalosporinas, inhibidas por isoxazolilpenicilina y carbenicilina y por algunas halopeniciloatos pero no por ácido clavulánico, sulbactam.

Peso molecular 24,000-46,000

Perfil: Pen 100, Carb 5, Clox 0, CER 150-800

Se encuentran en: Enterobacter, Morganella, Proteus vulgaris, Providencia, Pseudomonas, Klebsiella, Serratia, Citrobacter.

Tipo II

Enzimas activas contra penicilinas inhibidas por isoxazolilpenicilinas pero no por carbenicilina, inhibidas por ácido clavulánico.

Peso molecular 25,000-30,000

Perfil: Pen 100, Amp 150, Carb 40, Clox 0, CER 10

Se encuentran en: Proteus mirabilis, E. coli.

Tipo III

Enzimas que igualmente hidrolizan penicilinas y cefalosporinas, inhibidas por pCMB, isoxazolilpenicilinas, actividad reducida contra carbenicilina, inhibidas por ácido clavulánico, sulbactam.

Peso molecular: 17,000-29,000

Perfil: Pen 100, Amp 180, Carb 10, Clox 0, CER 150.

Nombres comunes: TEM, HSV-1, HMS.

Se encuentran en: E. coli, Haemophilus, Neisseria, Salmonella, Shigella, Pseudomonas. Es la enzima mas común a nivel mundial.

Tipo IV

Enzimas que igualmente hidrolizan penicilinas y cefalosporinas, resistentes a inhibición por isoxazolilpenicilinas y carbenicilina, pCMB pero inhibidas por ácido clavulánico y sulbactam.

Peso molecular: 18,000-25,000

Perfil: Pen 100, Amp 150, Carb 50, Clox 20, CER 70.

Se encuentra en: Klebsiella, Branhamella.

TIPO V

Hidrolizan igualmente penicilinas y cefalosporinas, hidrolizan isoxazolilpenicilinas mejor que cefalosporinas, inhibidas por ácido clavulánico.

Perfil: Pen 100, Amp 300, Carb 70, Clox 200, CER 50

Peso molecular: 12,000-32,000

Nombre común: OXA 1,2,3: PSE 1,2,3,4

Se encuentra en: E. coli, Pseudomonas.

TIPO VI

Hidrolizan cefalosporinas mejor que penicilinas. Inhibidas por cloxacilina, carbenicilina, cefamandol pero no cefoxitin.

Perfil: Pen 3, Amp 1.5, Carb 0.5, CER 100.

Se encuentra en: Bacteroides.

TABLA No. 6

CLASIFICACION GENERAL DE LAS BETALACTAMASAS

GRUPO	DENOMINACION	SUSTRATO	a. INHIBIDA POR ACIDO CLAVULANICO	EDTA	ACTIVIDAD ENZIMATICA
1	CEP - N	CEFALOS	NO	NO	Cromosoma/en bact. gram-negativo
2a	PEN - Y	PEN	SI	NO	Penicilinas gram-positivos
2b	BDS - Y	CEFALOS, PEN.	SI	NO	TEM-1, TEM-2
2b	EBS - Y	CEFOTAXIMA	SI	NO	TEM-3, TEM-5
2c	CAR - Y	PEN, CARBENICILINA	SI	NO	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	CLX - Y	PEN, CLOXACILINA	SI	NO	OXA-1, PSE-2
2e	CEP - Y	CEFALOS	SI	NO	<u>Proteus vulgaris</u>
3	MEI - N	VARIABLE	NO	SI	<u>Bacillus cereus</u> <u>Ps. maltophilia</u>
4	PEN - N	PEN	NO	? C	<u>Ps. cepacia</u>

PEN - PENICILINAS CEFALOS - CEFALOSPORINAS

a. 10 µM ACIDO CLAVULANICO

b. INHIBIDAS POR ACIDO CLAVULANICO SOLO A ALTAS CONCENTRACIONES

c. VARIABLE

Las Betalactamasas de S. aureus son enzimas exocelulares. Su síntesis es mediada por plásmidos y la mayoría de las enzimas son inducibles (48). Algunas cepas producen cantidades importantes de enzima exocelular debido a producción constitutiva (26).

Desde el punto de vista serológico existen cuatro tipos (A a la D) de betalactamasas de S. aureus. Las enzimas de los serotipos A y C son de alta actividad y se encontró que eran producidas por S. aureus típicas de hospital (33). La betalactamasa de S. aureus es un polipéptido sencillo cuyo peso molecular es de 29,000. Su punto isoeléctrico es 8.9.

Las betalactamasas estafilocócicas son fácilmente inhibidas por los inhibidores de betalactamasas (39).

Aunque muchos inhibidores de betalactamasas han sido estudiados, la llegada de lo que podría ser llamada la era moderna usando inhibidores de betalactamasa comienza clínicamente con el reporte de el ácido clavulánico en 1976 (56).

El ácido clavulánico es un producto natural, fue aislado de Streptomyces clavuligerus, contiene un anillo betalactámico no obstante ejerce solo actividad mínima antibacteriana cuando es usado solo. Su fórmula es $C_8H_7NO_5$ Figura No. 5 (2, 9).

El ácido clavulánico tiene la habilidad de inactivar irreversiblemente las betalactamasas producidas por muchas bacterias gramnegativas y grampositivas clínicamente importantes (15).

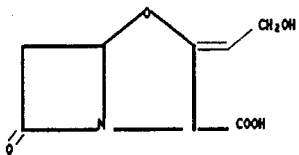
Las betalactamasas de S. aureus (mediados por plásmidos) son también inhibidas por ácido clavulánico.

La Amoxicilina combinada con ácido clavulánico (2:1) fue el primer inhibidor betalactamasa aprobado para uso mundial (9).

Ticarcilina combinada con ácido clavulánico (3g/100mg). Es un nuevo antibiótico de gran significancia clínica, su actividad antibacteriana resulta de la habilidad de la ticarcilina (antibiótico betalactámico) para romper la pared celular bacteriana y el ácido clavulánico su capacidad de actuar como inhibidor suicida de betalactamasas que inactivan ticarcilina Figura No. 6 (38).

Ticarcilina-ácido clavulánico tiene la habilidad para inhibir un amplio rango de bacterias gramnegativas y grampositivas, aerobias y anaerobias clínicamente importantes fué demostrado "in vitro" frente a una actividad de rutina consecutivamente con aislados clínicos (15). Esta actividad de amplio espectro excepcional incluyendo la habilidad para impedir la mayor parte de las formas comunes de resistencia bacteriana por antibióticos betalactámicos hacen de ticarcilina-ácido clavulánico una importante adición para el médico como un armamento antimicrobiano.

FIGURA No. 5

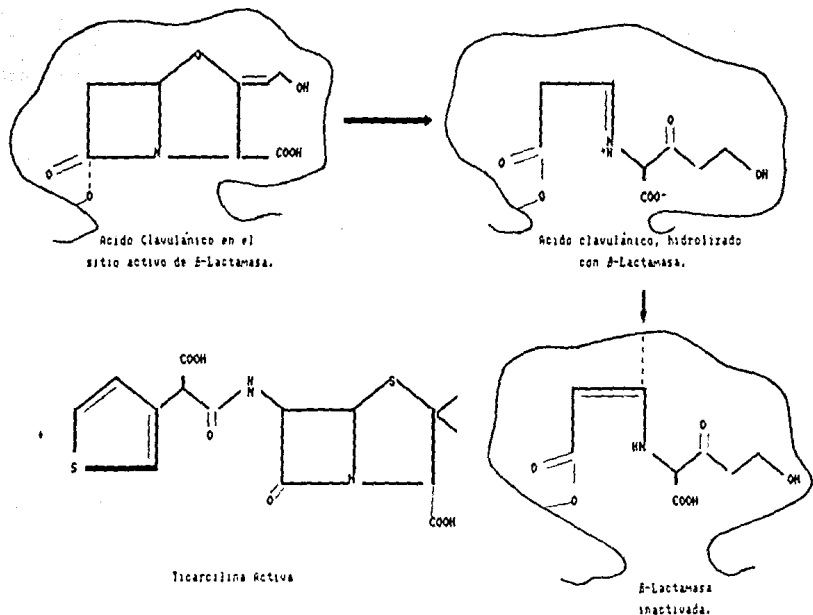


Acido Clavulánico (C₈H₇NO₅).

FIGURA No. 6

Ticarcilina + Acido clavulánico

β-Lactamasa



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Staphylococcus aureus. Es el agente causal de infecciones respiratorias agudas (IRA), pero también se aísla con frecuencia elevada de portadores sanos, existen discrepancias de criterios cuando se aísla de faringe para aceptarlo como agente patógeno (22, 30), ya que algunos autores están de acuerdo en que más bien el papel que podría desempeñar éste germen, es el de productor de betalactamasa (penicilinas) que al inhibir la penicilina, podría evitar la erradicación del Streptococcus pyogenes (22).

En los últimos años aparecieron cepas de S. aureus resistentes a múltiples antibióticos y fueron responsables de brotes de infecciones hospitalarias (33).

La aparición de Staphylococcus antibiótico-resistentes en los 40 últimos años se ha considerado como una inevitable respuesta genética hacia la presión selectiva impuesta por la terapia antimicrobiana (33).

La resistencia a los antibióticos betalactámicos en S. aureus se debe principalmente a la producción de enzimas que se conocen como betalactamasas. Debido a lo cual la idea de tratar con un inhibidor de betalactamasas es atractiva. En este caso el

Ácido clavulánico (inhibidor potente), el cual combinado con ticarcilina (antibiótico betalactámico) puede resultar valioso (15, 59).

OBJETIVOS

1. Aislar e Identificar cepas de Staphylococcus aureus de pacientes con o sin infección respiratoria aguda (IRA) que acudieron a la U.M.F. 28 "Gabriel Mancera" IMSS.
2. Identificar cepas productoras de la enzima betalactamasa de Staphylococcus aureus por el método de cefalosporina cromogénica en disco.
3. Determinar el patrón de resistencia de Staphylococcus aureus a penicilina, ampicilina y meticilina por el método de dilución seriada en placa.
4. Determinar la resistencia de Staphylococcus aureus productores de betalactamasa a ticarcilina-ácido clavulánico (timetin) por el método de difusión en agar.
5. Relacionar la resistencia o sensibilidad a penicilina, ampicilina y meticilina con la producción de betalactamasa.

HIPOTESIS

Debido al uso indiscriminado de los antimicrobianos en la clínica especialmente en infecciones adquiridas en los hospitales, así como de que en los últimos años aparecieron cepas de Staphylococcus aureus que fueron responsables de brotes de infecciones hospitalarias es de esperarse un incremento en la resistencia de cepas de S. aureus.

La prevalencia de portadores sanos de Staphylococcus aureus favorece la diseminación de cepas resistentes virulentas para huéspedes comprometidos en donde puede causar IRA moderada ó grave.

MATERIAL Y EQUIPO

I) Material Biológico

Cepas de Staphylococcus aureus aislados de pacientes que acudieron a la U.M.F. 28 "Gabriel Mancera" IMSS con o sin infección respiratoria aguda (IRA).

Cepas de Referencia

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Escherichia coli ATCC 35218

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Plasma Humano

Sangre de Carnero

II) Medios de Cultivo

Agar sal y manitol

Base de gelosa sangre

Caldo de soya tripticaseína

Medio de transporte Stuart

Medio O/F

Agar Mueller-Hinton

Caldo Mueller-Hinton

III) Azúcares

Glucosa

Manitol

IV) Antimicrobianos en sales puras

Penicilina 1625 U/mg Lakeside

Ampicilina 975 µg/mg Lakeside

Meticilina 905 µg/mg Sigma

V) Discos individuales con antibiótico

Penicilina 10 U

Ampicilina 10 µg

Ticarcilina-ácido clavulánico 75/10 µg

VI) Material de vidrio

Cajas de petri estériles

Pipetas volumétricas de 1 ml.

Pipetas volumétricas de 5 ml.

Pipetas volumétricas de 10 ml.

Botellas de dilución

Tubos estériles 15 X 150 mm.

Tubos estériles 13 X 100 mm.

Pipetas Pasteur estériles

Matraces erlenmeyer

VII) Otros

Abatelenguas

Hisopos estériles

VIII) Reactivos

Peróxido de hidrógeno al 3%

Solución salina al 0.85%

Solución reguladora de fosfatos 0.1M pH=8.0

Rojo de fenol al 0.5%

Agua destilada

Discos impregnados con Nitrocefín (Cefinase)

IX) Equipo

Autoclave

Incubadora

Refrigerador a 4 °C

Microscopio

Horno

Replicador de Steers

Balanza analítica

Campana de flujo laminar

Baño metálico

Gradillas

M E T O D O

- I) El presente trabajo forma parte del Estudio para la Evaluación del Diagnóstico y Tratamiento de las Infecciones respiratorias agudas (IRA) en pacientes de primer nivel de atención de consulta externa de la U.M.F. 28 "Gabriel Mancera" IMSS.

Para el estudio se aplicó un cuestionario (anexo 1) a 192 pacientes con infección respiratoria aguda que acudieron a consulta externa considerando los siguientes criterios de inclusión:

- a) Se incluyeron pacientes que acudieron a consulta externa por infección respiratoria aguda (menos de 21 días de evolución).
- b) A quienes el médico familiar haya diagnosticado principalmente rinofaringitis ó catarro común, faringitis, amigdalitis, sinusitis, otitis media, laringitis y bronquitis.
- Se incluyeron testigos sanos.

ESTUDIO DEL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO
DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS SUPERIORES
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR No 28 "GABRIEL MANCERA"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

encuestador: _____ | medico | _____ |

I. IDENTIFICACION

NO: | | | | |
| | | | |
I M

NOMBRE _____ CONSULT. | | | | |

AFILIACION: | | | | | | AGREG: | | | | | TEMP | | | | |

EDAD: | | | | | | SEXO: | | | | | PESO: | | | | | | TALLA: | | | | |
masc=1 fem=2

DOMICILIO _____

VISITA | | | | | si=1 no=2 EFECTUADA: | | | | | si=1 no=2 LABORATORIO: | | | | | si=1 no=2
TEL _____

II CUADRO CLINICO

si=1 no=2

EVOLUCION: | | | | |

FIEBRE		TOS SECA		ODINOFAGIA*	
ESTORNUDOS		TOS PRODUCTIVA		OTALGIA IZO*	
RINORREA HIAL.		EXPECT. HIAL. *		OTALGIA DER*	
RINORREA PURU.		EXPECT. PURU. *		OTORREA IZO	
CEFALEA*		SECRECION RET.*		OTORREA DER	
ADENOPATIA DOL.*		DISFAGIA*		MIDARTRALGIAS*	
* solo mayores de 5 años		OTROS _____			

ANTECEDENTES _____ AMIGDALECTOMIA: | | | | |

III. TRATAMIENTO PREVIO

ANTIBIOTICOS	OTROS MED.	REMEDIOS CASEROS
a b	a b c	a b
QUIEN RECOM*	QUIEN RECOM*:	QUIEN RECOMENDO*:
a b	a b c	a b
ninguno _____ =0	ninguno _____ =0	ninguno _____ =0
penicilinas _____ =1	aas _____ =1	te de bugambilia =1
eritromicina _____ =2	acetaminofen _____ =2	te de gordolobo =2
ampicilina _____ =3	pirazonas _____ =3	miel con limon =3
dicloxacilina _____ =4	antihistaminicos _____ =4	te de manzanilla =4
lincomicina _____ =5	antitusigenos _____ =5	te de canela =5
tmp-smz _____ =6	gotas nasales _____ =6	maniobras _____ =6
tetraciclina _____ =7	gotas oticas _____ =7	otros _____ =7
otros _____ =8	otros _____ =8	otros _____ =7

OBSERVACIONES _____

*QUIEN RECOMENDO:

madre =1	autoprescrito=2	familiar =3	medico familiar=4
medico priv. =5	enfermera =6	boticario=7	vecino =8
otros =9			

IV. EXPLORACION FISICA

MUCOSA NASAL !__! AMIGDALAS !__! SECRECION RETROFARINGEA!__!
 FARINGE !__! ADENOPATIA DOLOROSA* !__!
 normal =1 normal =1 *solo mayores de 5 a. si=1 no=2
 hiperemia leve=2 hipertroficas=2
 hiperemia sev.=3 hiperemicas =3
 con pus =4
 ausentes =5
 CAMPOS PULMONARES !__! normal =1 perforada =4
 limpios =1 e.alveolares=4 hiperemica=2 con pus =5
 e. transmitidos=2 e. bronquiales =3
 e. bronquiales =3 no visible=6
 SIBILANCIAS !__! si=1
 !__!no=2

FREC. CARDIACA !__!__!__!
 OTROS DATOS !__! si=1 no=2

V. DIAGNOSTICOS

INVESTIGADORES !__!

MEDICO FAMILIAR !__!

rinofaringitis =1 sinusitis =4 bronquitis =7
 faringitis =2 laringitis =5 otitis media aguda =8
 amigdalitis =3 traqueitis =6 otros _____=9

VI. LABORATORIO

EDAD !__!__! NUMERO !__!__!__! DIAS EVOLUCION !__!__!
 DIAGNOSTICO _____ ANTIBIOTICO PREVIO !__!
 (en las 2 ultimas semanas)
 si=1 no=2

PRUEBA DE COAGULINACION PIKE !__! RESULT. _____
 LDR !__! PHADIRECT !__! STUART !__! RESULT. _____
 positiva=1 negativa=2
 VIROLOGICO: !__! RESULT. _____
 si=1 no=2

VII. MANEJO POR EL MEDICO FAMILIAR

SABE EL NOMBRE DEL MEDICO FAMILIAR !__! QUE LE DIJO QUE TENIA!__! ENTENDIO LA RECETA!__!
 no le dijo =1 si=1
 le dijo y no entendio =2 no=2
 le dijo _____ parcial=3
 si=1 no=2
 CUAL REMEDIO _____=3

II) Para el aislamiento de Staphylococcus aureus se llevo acabo lo siguiente:

a) Exudado Faríngeo

Por medio de un abatelenguas estéril, se deprimió la lengua del paciente, se iluminó lo mejor posible su garganta y con un hisopo estéril, se frotó firmemente sobre las paredes de la faringe y ambas amígdalas y en cualquier área de inflamación, ulceración ó exudación.

b) Se colocó el hisopo en medio Stuart, y se mantuvo en refrigeración para su traslado al laboratorio.

c) Se sembró por estria cruzada en los siguientes medios: Agar sangre y agar sal y manitol.

d) Se incubó a 37°C durante 24 a 48 horas.

e) Se observó si hubo crecimiento o no.

f) Si hubo crecimiento, se procedio a realizar lo siguiente:

Frote y Tinción

Catalasa

O/F Glucosa

III) La Identificación de Staphylococcus aureus se llevo a cabo realizando las siguientes pruebas (28):

- a) Coagulasa
- b) Producción de ácidos en condiciones aeróbicas
- c) Susceptibilidad a la novobiocina

a) Coagulasa

Cada cepa se inoculó en 0.5 ml. de plasma humano, se incubó por 4-24 horas a 37°C. y se leyó a las 4 y a las 24 horas.

Interpretación

- + = Coágulo en el tubo.
- = No se observa el coágulo.

b) Producción de ácido en condiciones aeróbicas

En tubos con medio base púrpura de bromocresol con carbohidrato (manitol ó glucosa al 1%) se sembró cada cepa por estria, se incubó por 24 horas a 37°C. Las lecturas se realizaron diariamente hasta las 72 horas.

Interpretación

- + = Amarillo (72 horas)
- = No cambia de color (púrpura) o producción de alcalinidad.

c) Susceptibilidad a la Novobiocina

Preparación del inóculo. Cada cepa se sembró en un tubo que contenía 3 ml. de caldo soya tripticaseína, el tiempo de incubación fué de tres horas, y posteriormente se ajustó la turbiedad al tubo 0.5 del nefelómetro de Mc. Farland.

En las cajas con agar Mueller-Hinton se inocularon cada una de las cepas con ayuda de hisopos estériles mojándolo en la suspensión de microorganismos, quitando el exceso del caldo presionando y girando el hisopo sobre las paredes internas del tubo, por arriba del nivel del caldo.

La cepa se estria en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie del medio, así se obtuvo un inóculo uniforme, con el hisopo se efectuó un barrido sobre el borde de la caja de petri y el medio.

Los discos se colocaron en la superficie del medio presionándolos ligeramente para asegurar el contacto completo con la superficie después de 15 minutos de haber colocado los discos se invirtió la caja e incubó a 37°C. por 24 horas.

Las lecturas de las placas se realizaron midiendo el halo de inhibición.

Interpretación

Resistente = Halo de inhibición menor de 16 mm.

Sensible = Halo de inhibición mayor de 16 mm.

IV) Determinación de Betalactamasa

Método Cefinase para la detección de Betalactamasa

1. Usando un sólo disco dispensador, se distribuyó el número de discos requeridos desde el cartucho en una caja de petri vacía o en un portaobjetos para microscopio. Se humedeció cada disco con una gota de agua purificada.
2. Con una asa esterilizada o un aplicador de madera se trasladaron varias colonias aisladas similares y se frotaron en la superficie del disco. Se observó el cambio de color de el disco.

Resultados y Interpretación

Una reacción positiva mostrará un cambio de color amarillo a rojo en el área donde el cultivo fué aplicado. Para la mayoría de las cepas bacterianas un

resultado positivo se revelará dentro de 5 minutos. Sin embargo, reacciones positivas de algunos Staphylococcus pueden empezar a revelarse en una hora.

V) Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria por el Método de dilución seriada en placa (37).

A) Preparación de las soluciones antimicrobianas

Se utilizaron sales puras, se pesaron diferentes cantidades de cada una en función de su potencia y se disolvieron considerando los solventes adecuados para cada uno de los antimicrobianos. Tabla No. 7.

Se hicieron diluciones seriadas de 2560-0.15 $\mu\text{g/ml}$. de los diferentes antimicrobianos utilizados, partiendo de una solución inicial que contenía 10 000 $\mu\text{g/ml}$. La solución que contenía 10 000 $\mu\text{g/ml}$ se diluyó con 4.86 ml de agua desionizada estéril para obtener una concentración de 5120 $\mu\text{g/ml}$. Tabla No. 8, Diagrama No. 2

Las diluciones que contenían 5120, 1280, 160, 20 y 2.5 $\mu\text{g/ml}$ sirvieron como patrón para preparar las demás diluciones correspondientes.

TABLA No. 7

ANTIBIOTICO	SOLVENTE	DILUENTE
AMPICILINA	Regulador de Fosfatos 0.1 M. pH = 8.0	Agua
METICILINA	Agua	Agua
PENICILINA G	Agua	Agua

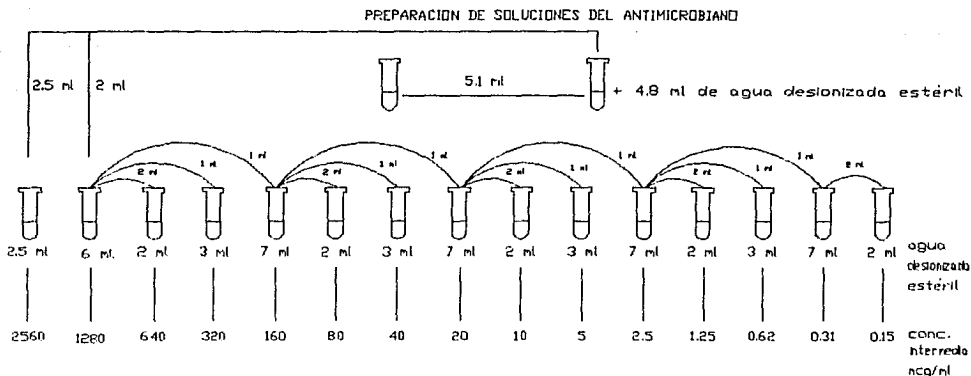
TOMADA DE LA LENNETE Y COL.⁸¹ (1965).

TABLA No. 8

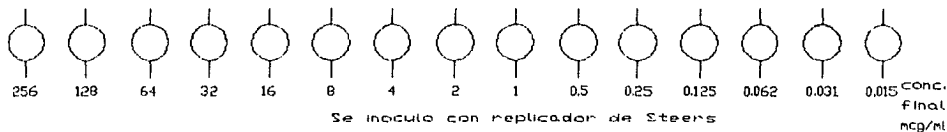
PREPARACION DE DILUCIONES DE ANTIMICROBIANO PARA EL
METODO DE DILUCION SERIADA EN PLACA

Solución del antibiótico		Agua estéril	Concent.	Concent.	
Vol. (ml.)	$\mu\text{g} \wedge \text{UI/ml}$	Vol. (ml.)	Intermedia $\mu\text{g} \wedge \text{UI/ml}$	Final $\mu\text{g} \wedge \text{UI/ml}$	Logz
2.5	5120	2.5	2560	256	8
2.0	5120	6.0	1280	128	7
2.0	1280 DE ARRIBA	2.0	640	64	6
1.0	1280 "	3.0	320	32	5
1.0	1280 "	7.0	160	16	4
2.0	160 DE ARRIBA	2.0	80	8	3
1.0	160 "	3.0	40	4	2
1.0	160 "	7.0	20	2	1
2.0	20 DE ARRIBA	2.0	10	1	0
1.0	20 "	3.0	5	0.5	-1
1.0	20 "	7.0	2.5	0.25	-2
2.0	2.5 DE ARRIBA	2.0	1.25	0.125	-3
1.0	2.5 "	3.0	0.62	0.062	-4
1.0	2.5 "	7.0	0.31	0.031	-5
2.0	0.31 DE ARRIBA	2.0	0.15	0.015	-6

DIAGRAMA No. 2 SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS POR METODO DE DILUCION SERIADA EN PLACA



Adicionar 1.5 ml de cada dilucion a un frasco conteniendo 13.5 ml del medio de Mueller-Hinton para obtener las siguientes concentraciones por placa



Se inocula con replicador de Steers
Se incuba a 37 °C 18 hs
Se lee concentración mínima inhibitoria

B) Preparación de las Placas

Se depositó 1.5 ml. de antimicrobiano con 13.5 ml. del medio de Mueller-Hinton (En el caso de la meticilina se adicionó al medio NaCl 2%, CaCl_2 y MgCl_2), se mezcló y se vació en las placas.

Se dejó gelificar y secar a temperatura ambiente. De esta forma se obtuvieron las concentraciones finales de 256-0.015 $\mu\text{g/ml}$.

C) Preparación del Inóculo

Se tomaron de 4-5 colonias de la cepa problema. Se inoculó un tubo que contenía 4 ml. de caldo soya tripticaseína.

Se incubó por 18 horas a 37°C. Se estandarizó el inóculo por comparación visual con el tubo 0.5 del Nefelómetro de Mc. Farland.

Se tomó 0.25 ml. del tubo estandarizado y se mezcló con 4.75 ml. de caldo soya tripticaseína. Con pipeta Pasteur se depositó el inóculo en los hoyos de la placa del replicador de Steers.

D) Inoculación de las Placas

Se inoculó por medio del replicador de Steers 32 cepas por placa, en una placa se puso 29 cepas de Staphylococcus aureus más las cepas control.

Se dejó secar el inóculo a temperatura ambiente. Se incubaron las placas a 37°C por 18 horas.

Se preparó una placa testigo sin antimicrobiano para comprobar el crecimiento de todas las cepas.

E) Lectura e Interpretación

Las placas se colocaron en orden creciente de concentración al final del periodo de incubación, se anotó el resultado de CMI para cada microorganismo que equivale a la menor concentración del antimicrobiano capaz de inhibir el desarrollo del microorganismo durante el periodo de incubación.

VI) Método de Difusión en Agar

Prueba de Bauer-Kirby para la sensibilidad a los antimicrobianos (36).

A) Inóculo

Con una asa se tocarón 4 ó 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico. Se inocularon en 4 ml. de caldo soya tripticaseína. Se incubó el tubo a 37°C. durante 18 horas.

Se ajustó la turbiedad con caldo estéril, se tomó como referencia el tubo 0.5 del nefelómetro de Mc. Farland.

B) Preparación del medio

El medio empleado es el de Mueller-Hinton con un pH final de 7.2-7.4, se agregó aproximadamente 60 ml. a la caja de petri de 150 X 15 mm. ó 25 ml. a la caja de petri de 100 mm.

C) Inoculación de las placas

Las placas se inocularon con ayuda de hisopos estériles, el hisopo se mojó en la suspensión del microorganismo, se quitó el exceso del caldo presionando y girando el hisopo sobre las paredes internas del tubo por arriba del nivel del caldo.

Se estrió el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie del medio, así se obtuvo un inóculo uniforme. Se efectuó un barrido del hisopo sobre el reborde de la caja de petri y el medio.

D) Colocación de los discos

Los discos se colocaron en la superficie del medio presionándolos ligeramente para asegurar un contacto completo con la superficie.

Después de 15 min. de haber sido colocados los discos las cajas se invirtieron y se incubaron a 37°C.

E) Lectura

El tiempo de incubación fué de 16 a 18 horas

La medición de los halos de inhibición se hizo con regla, por el fondo de la caja la cual fué iluminada con luz reflejada.

Los diámetros de las zonas de inhibición se compararon con los valores de referencia reportados en la Tabla No. 9 y se tabularon bajo las categorías de susceptibles, intermedios y resistentes.

TABLA No. 9
PRUEBA EN DISCO (Diámetro mm)

ANTIBIOTICO	CONC. DISCO	S	MS	R
AMPICILINA	10 MCG			
ENTEROBACTERIAS		≥ 17	14-16	≤ 13
ESTAFILOCOCCOS		≥ 29	---	≤ 28
ENTEROCOCOS		---	≥ 17	≤ 16
OTROS COCOS GRAMPOSITIVOS NO ENTERICOS		≥ 30	22-29	≤ 21
PENICILINA	10 UI			
ESTAFILOCOCCOS		≥ 29	---	≤ 28
ENTEROCOCOS		---	≥ 15	≤ 14
COCOS GRAMPOSITIVOS NO ENTERICOS		≥ 28	20-27	≤ 19
TICARCILINA-AC. CLAVULANICO	85 MCG	≥ 15	12-14	≤ 11

RESULTADOS

Se estudiaron 258 exudados faríngeos procedentes de: 192 individuos de IRA de vías respiratorias altas, de las cuales 57 tenían Faringitis con exudado purulento (FP), 69 con Faringitis sin exudado purulento (FS) y 66 con rinofaringitis (RF) y 66 Testigos sanos.

Se aislaron 89 cepas de S. aureus. La frecuencia de aislamiento de éste microorganismo en los diferentes síndromes clínicos estudiados (Tabla No. 10) fueron: En faringitis con exudado purulento 20 cepas (7.8%), faringitis sin exudado purulento 24 (9.3%) y rinofaringitis 23 (8.9%) y testigos sanos 22 (8.5%).

También se aislaron 21 cepas de Streptococcus pyogenes. La frecuencia de aislamiento de éste microorganismo en los diferentes síndromes clínicos estudiados (Tabla No. 11) fueron: En faringitis con exudado purulento 12 cepas (4.6%), faringitis sin exudado purulento 4 (1.5%) y rinofaringitis 2 (0.8%) y testigos sanos 3 (1.2%).

La Tabla No. 12 muestra el aislamiento de S. aureus, en relación a la edad de los individuos estudiados: En niños de 1-4 años de edad se aislaron 19 cepas de S. aureus (21%); este porcentaje aumento a 51% en niños de 5 a 14 años de edad, y

disminuyó en personas de 15 a 30 años a 20.2% y en mayores de 30 años a 7.8%.

A las cepas aisladas se les determinó su resistencia *In vitro* a penicilina, ampicilina y meticilina por el Método de dilución en agar.

El porcentaje de resistencia de S. aureus a Penicilina en los diferentes síndromes clínicos estudiados fueron: Faringitis con exudado purulento 100% de resistencia, faringitis sin exudado purulento 96%, rinofaringitis 95.7% y control sano 95.5% (Tabla No. 13).

La Tabla No. 14 muestra el porcentaje de resistencia de S. aureus a Ampicilina, en los diferentes síndromes clínicos estudiados: faringitis con exudado purulento 95%, faringitis sin exudado purulento 79%, rinofaringitis 95.7% y control sano 95.5%.

En el caso de la Meticilina la mayoría de las cepas de S. aureus en los diferentes síndromes clínicos estudiados fueron sensibles (Tabla No. 15), solo se encontró 1.12% de resistencia.

También se les determinó su resistencia *In vitro* a penicilina, ampicilina y ticarcilina-ácido clavulánico por el método de Difusión en agar.

El porcentaje de resistencia de S. aureus a penicilina en los diferentes síndromes clínicos estudiados fueron: Faringitis con exudado purulento 100% de resistencia, faringitis sin exudado purulento 96%, rinofaringitis 95.7% y control sano 100% (Tabla No. 17).

Con respecto a la Ampicilina se encontró que el porcentaje de resistencia en los diferentes síndromes clínicos fueron: En faringitis con exudado purulento 95%, faringitis sin exudado purulento 91.6%, rinofaringitis 95.7% y control sano 95.5% (Tabla No. 18).

La resistencia de S. aureus a Ticarcilina-ácido clavulánico en los diferentes síndromes clínicos estudiados se encontró que el 1.12% de las cepas fueron resistentes (Tabla No. 19).

El porcentaje de resistencia de las cepas de S. aureus a penicilina y ampicilina fueron similares a los ya obtenidos por el método de dilución en agar (Tabla No. 21).

La Tabla No. 22 muestra los porcentajes acumulados de las CMI para 89 cepas de S. aureus a penicilina, ampicilina y meticilina. En el caso de la penicilina el 3.4% de las cepas son inhibidas a una concentración de 0.125 µg/ml.

También se identificaron las cepas de S. aureus productoras de la enzima Betalactamasa por el método de Cefalosporina cromogénica en disco. De las 89 cepas de S. aureus el 95.5% (85 cepas) son productoras de la enzima Betalactamasa (Tabla No. 23).

En la Tabla No. 24 se puede observar la relación de la producción de Betalactamasa y su resistencia a diferentes antimicrobianos.

TABLA No. 10

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE Staphylococcus aureus EN PACIENTES
CON O SIN I.R.A.

Síndrome Clínico	No.	<u>Staphylococcus aureus</u>	
		No.	(%)
Faringitis c/ exudado purulento	57	20	(7.8)
Faringitis s/ exudado purulento	69	24	(9.3)
Rinofaringitis	68	23	(8.9)
Control sano	68	22	(8.5)
Total	258	89	(34.5)

TABLA No. 11

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE Streptococcus pyogenes EN PACIENTES
CON O SIN I.R.A.

Síndrome Clínico	No.	<u>Streptococcus pyogenes</u>	
		No.	(%)
Faringitis c/ exudado purulento	57	12	(4.8)
Faringitis s/ exudado purulento	69	4	(1.5)
Rinofaringitis	68	2	(0.8)
Control sano	66	3	(1.2)
Total	258	21	(8.1)

TABLA No. 12

AISLAMIENTO DEL Staphylococcus aureus EN RELACION A LA
 EDAD DE LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS

Edad (Años)	No. Aislamientos	Por ciento
1-4	19	21
5-14	45	51
15-30	18	20.2
>30	7	7.8
Total	89	100.0

TABLA No. 13

RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A PENICILINA POR EL METODO
DE DILUCION SERIADA EN AGAR.

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	20	100.0	0	0
Faringitis s/ exudado purulento	24	23	96.0	1	4.0
Rinofaringitis	23	22	95.7	1	4.3
Control Sano	22	21	95.5	1	4.5
Total	89	86	96.6	3	3.4

S= SENSIBLE Valor de corte $\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$

R= RESISTENTE Valor de corte $\geq 0.25 \mu\text{g/ml}$

TABLA No. 14
RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A AMPICILINA POR EL
METODO DE DILUCION SERIADA EN AGAR.

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	19	95.0	1	5.0
Faringitis s/ exudado purulento	24	19	79.0	5	21.0
Rinofaringitis	23	22	95.7	1	4.3
Control Sano	22	21	95.5	1	4.5
Total	89	81	91.01	8	8.99

S= SENSIBLE Valor de corte $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$

R= RESISTENTE Valor de corte $> 0.5 \mu\text{g/ml}$

TABLA No. 15

RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A METICILINA POR EL
METODO DE DILUCION SERIADA EN AGAR.

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	0	0	20	100.0
Faringitis s/ exudado purulento	24	0	0	24	100.0
Rinofaringitis	23	1	4.3	22	95.7
Control Sano	22	0	0	22	100.0
Total	89	1	1.12	88	98.88

S= SENSIBLE Valor de corte \leq 8.0 μ g/ml

R= RESISTENTE Valor de corte \geq 16.0 μ g/ml

TABLA No. 16

COMPARACION DE PORCENTAJES DE RESISTENCIAS* A PENICILINA, AMPICILINA
Y METICILINA EN Staphylococcus aureus.

Síndrome Clínico	No.	Penicilina	Ampicilina	Meticilina
Faringitis c/ exudado purulento	20	100.0	95.0	0
Faringitis s/ exudado purulento	24	96.0	79.0	0
Rinofaringitis	23	95.7	95.7	4.3
Control Sano	22	95.5	95.5	0
Total	89	96.6	91.01	1.12

*=METODO DE DILUCION SERIADA EN AOAR.

TABLA No. 17

RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A PENICILINA
POR EL METODO DE KIRBY-BAUER.

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	20	100.0	0	0
Faringitis s/ exudado purulento	24	23	95.0	1	4.0
Rinofaringitis	23	22	95.7	1	4.3
Control Sano	22	22	100.0	0	0
Total	89	87	97.8	2	2.2

S= SENSIBLE Valor de corte \geq 29.0 mm.

R= RESISTENTE Valor de corte \leq 28.0 mm.

TABLA No. 18

RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A AMPICILINA
POR EL METODO DE KIRBY-BAUER.

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	19	95.0	1	5.0
Faringitis s/ exudado purulento	24	22	91.6	2	8.4
Rinofaringitis	23	22	95.7	1	4.3
Control Sano	22	21	95.5	1	0.5
Total	89	84	94.4	5	5.6

S= SENSIBLE Valor de corte \geq 29.0 mm.

R= RESISTENTE Valor de corte \leq 28.0 mm.

TABLA No. 19

RESISTENCIA DE Staphylococcus aureus A TICARCILINA-ACIDO
CLAVULANICO (TIMENTIN) POR EL METODO DE KIRBY-BAUER

Síndrome Clínico	No.	Resistente		Sensible	
		No.	%	No.	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	0	0	20	100.0
Faringitis s/ exudado purulento	24	0	0	24	100.0
Rinofaringitis	23	1	4.3	22	95.7
Control sano	22	0	0	22	100.0
Total	89	1	1.12	88	98.88

S= SENSIBLE Valor de corte \geq 20.0 mm.

R= RESISTENTE Valor de corte \leq 14.0 mm.

TABLA No. 20

COMPARACION DE PORCENTAJES DE RESISTENCIA* A PENICILINA,
AMPICILINA Y TICARCILINA-ACIDO CLAVULANICO (TIMENTIN)
EN Staphylococcus aureus .

Síndrome Clínico	No.	Penicilina	Ampicilina	Ticarcilina - Ac. clavulánico
Faringitis c/ exudado purulento	20	100.0	95.0	0
Faringitis s/ exudado purulento	24	96.0	91.6	0
Rinofaringitis	23	95.7	95.7	4.3
Control Sano	22	100.0	95.5	0
Total	89	97.8	94.4	1.12

*= METODO DE KIRBY-BAUER.

TABLA No. 21

COMPARACION DE PORCENTAJES DE RESISTENCIA EN Staphylococcus aureus
A PENICILINA Y AMPICILINA POR EL METODO DE DILUCION EN AGAR Y
KIRBY-BAUER.

Síndrome Clínico	No.	Dilución en agar		Kirby-Bauer	
		PEN.	AMP.	PEN.	AMP.
Faringitis c/ exudado purulento	20	100.0	95.0	100.0	95.0
Faringitis s/ exudado purulento	24	96.0	79.0	96.0	91.6
Rinofaringitis	23	95.7	95.7	95.7	95.7
Control Sano	22	95.5	95.5	100.0	95.5
Total	89	96.6	91.01	97.8	94.4

PEN. =PENICILINA

AMP. =AMPICILINA

TABLA No. 22 PORCENTAJE ACUMULADO DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS (CMI) PARA 89 CEPAS DE S.aureus.

AGENTE ANTIMICROBIANO	X ACUMULADO DE CMI (ug/ml)														
	0.015	0.031	0.062	0.125	0.250	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256
PENICILINA			1.1	3.4	6.7	12.4	34.8	55	82	96.6	100	100	100	100	100
AMPICILINA				3.4	9.0	19.1	48.3	71.9	92.1	97.8	100	100	100	100	100
NETICILINA							1.1	65.2	95.5	98.9	100	100	100	100	100

VALOR DE CORTI

TABLA No. 23

PRUEBA DE β -LACTAMASA EN 89 CEPAS DE Staphylococcus aureus
POR METODO DE CEFINASE (NITROCEFÍN).

Síndrome Clínico	No. Cepas	β -Lactamasa	
		No. Cepas positivas	%
Faringitis c/ exudado purulento	20	20	100
Faringitis s/ exudado purulento	24	22	91.6
Rinofaringitis	23	22	95.7
Control sano	22	21	95.5
Total	89	85	95.5

TABLA No. 24 RELACION DE LA PRODUCCION DE β -LACTAMASA EN 89 CEPAS DE S.aureus Y SU RESISTENCIA A DIFERENTES ANTINICROBIANOS.

	N	%	Penicilina		Ampicilina		Meticilina		Ticarcilina-ac. clavulan.	
			P _{IN} ^R	P _{IN} ^S	A _{MP} ^R	A _{MP} ^S	M _{ET} ^R	M _{ET} ^S	T _{IC} ^R	T _{IC} ^S
			N	%	N	%	N	%	N	%
β -Lactamasa (+)	85	(95,5)	85 (100)	0 (0,0)	81 (95,3)	4 (4,7)	0 (0,0)	85 (100)	0 (0,0)	85 (100)
β -Lactamasa (-)	4	(4,5)	1 (25)	3 (75)	0 (0,0)	4 (100)	1 (25)	3 (75)	1 (25)	3 (75)

ANALISIS DE RESULTADOS

Se aislaron un total de 89 cepas de S. aureus . La frecuencia de aislamiento de éste microorganismo en los síndromes clínicos estudiados (faringitis con exudado purulento, faringitis sin exudado purulento, rinofaringitis y testigos sanos) se observo que los porcentajes en el número de casos fueron similares, esto se puede deber a que el S. aureus es agente causal de Infecciones Respiratorias Agudas (IRA), pero también se aísla con frecuencia elevada en portadores sanos (22, 30).

En el caso del aislamiento de Streptococcus pyogenes si se observo diferencia en la frecuencia de aislamiento en los diferentes síndromes clínicos estudiados ya que el S. pyogenes es agente etiológico de las vías respiratorias altas y el segundo patógeno en orden de frecuencia causante de faringoamigdalitis (5).

Se evaluo el aislamiento de S. aureus en relación a la edad de los individuos estudiados y se pudo observar que la mayoría de los pacientes fueron niños, lo cual concuerda con lo reportado por la Secretaría de Salud durante 1986 donde la mayor parte de los casos de IRA se presentaron en las edades comprendidas entre 1 y 14 años (18). La incidencia esta inversamente relacionada con la edad presentandose un pico de 8

a 9 episodios por año en los dos primeros años de la vida y decrece progresivamente hasta presentar 3 a 4 episodios por año de los 3 a los 5 años. En la etapa escolar nuevamente sufre un aumento debido al incremento de la amigdalitis estreptocócica (23, 45).

Se determinó la susceptibilidad de S. aureus a penicilina, ampicilina y meticilina por el método de dilución seriada en agar. Con respecto a la susceptibilidad a penicilina en los diferentes síndromes clínicos estudiados se obtuvo que el 96.6% de las cepas de S. aureus fueron resistentes. El resultado anterior tiene relación con lo reportado por Trejo y cols. que en 1984 (57), efectuaron la sensibilidad a penicilina de cepas de S. aureus obtenidas de población sana y enfermos con patología diversa y el porcentaje de resistencia a la penicilina en los grupos estudiados variaron de 80 a 97 por ciento.

En el caso de la susceptibilidad a ampicilina se obtuvo que el 91.01% de las cepas de S. aureus fueron resistentes. Estudios anteriores reportan una susceptibilidad mayor a la obtenida esto se puede deber a que nosotros tomamos como valor de corte el reportado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (37).

Así mismo se determinó la susceptibilidad a meticilina

obteniéndose que el 98.88% de las cepas fueron sensibles y el 1.12% de las cepas fueron resistentes. Este porcentaje de resistencia se puede deber a que estas cepas tienen un mecanismo en el cual se involucra una disminución de la afinidad o de la cantidad de las PBP's que acarrea el antimicrobiano a su sitio blanco, mecanismo de resistencia diferente al de las Betalactamasas (32).

Al comparar los porcentajes de resistencia de S. aureus a penicilina y ampicilina por el método de dilución seriada en placa y el de Kirby-Bauer (Tabla No. 21) se observo que hay una variación mínima de 3.4% entre estos métodos, lo cual nos indica la confiabilidad de ambos, siempre y cuando se efectuen todas las indicaciones descritas para cada uno de estos métodos.

Con respecto a la resistencia de S. aureus a Ticarcilina-ácido clavulánico se obtuvo que el 98.88% de las cepas fueron sensibles y que el 1.12% fueron resistentes lo cual es satisfactorio y concuerda con la literatura (26) en donde se mencionan que la combinación Ticarcilina-ácido clavulánico y Amoxicilina-ácido clavulánico es eficaz "In vitro", debido a las bajas CMI reportadas. Además se ha reportado eficacia "In vivo" en estudios recientes ya que el paciente presento mejoría clínica al tratarlo con dichas combinaciones (27).

Se identificaron las cepas de S. aureus productoras de la

enzima Betalactamasa por el método de Cefalosporina cromogénica en disco y se obtuvo que el 95.5% de las cepas producían Betalactamasa, esto se debe a que el principal mecanismo de resistencia de S. aureus es la producción de la enzima Betalactamasa (penicilinas), la cual inactiva a la penicilina (57).

En la Tabla No. 24 se puede observar la correlación entre la susceptibilidad de las cepas de S. aureus a penicilina y la producción de Betalactamasa y los resultados obtenidos son del 100%. Estos resultados son semejantes a los publicados (57), aunque el método de determinación de la producción de Betalactamasa es diferente.

Ahora bien en la misma Tabla se puede observar que cuando se ensayo Ticarcilina-ácido clavulánico para las cepas productoras de Betalactamasa, se obtuvieron porcentajes altos de susceptibilidad. Estos resultados demuestran la capacidad del ácido clavulánico de actuar como inhibidor suicida de Betalactamasa y dejando que la Ticarcilina lleve a cabo su acción bactericida (38).

Tomando en cuenta todos los resultados obtenidos en la susceptibilidad de S. aureus a los cuatro antibióticos empleados y la producción de Betalactamasa, se tiene que la Ticarcilina-ácido clavulánico tuvo mejor espectro de

susceptibilidad en comparación con penicilina y ampicilina en los cuales su susceptibilidad es muy baja.

Un estudio realizado con Ticarcilina-ácido clavulánico (27) se observó una buena respuesta bacteriológica y clínica con lo cual se puede decir que un inhibidor potente de Betalactamasa combinada con los derivados de penicilina puede aumentar la susceptibilidad bacteriana.

CONCLUSIONES

- 1.- Se logró aislar e identificar cepas de Staphylococcus aureus el cual puede ser agente causal de infecciones respiratorias agudas, pero también se aisló un porcentaje elevado en portadores sanos.
- 2.- Se logró determinar las cepas productoras de Betalactamasa por el Método de Cefalosporina cromogénica en disco, la cual es una prueba rápida, sencilla y confiable.
- 3.- Respecto a la determinación de la resistencia de Staphylococcus aureus a penicilina y ampicilina por el método de dilución seriada en placa se puede concluir lo siguiente:

La resistencia a penicilina en los diferentes síndromes clínicos y testigos sanos fué del 96.6%, valores mayores a los reportados. Para ampicilina la resistencia obtenida fué del 91.01%, valores mayores a los reportados.

La resistencia se ha incrementado probablemente por el uso indiscriminado de los antimicrobianos en los pacientes de primer nivel de atención primaria de consulta externa, especialmente en IRA se pueden seleccionar cepas

con elevada resistencia peligrosas para individuos comprometidos o alterar la respuesta al antimicrobiano de elección que en IRA puede ser penicilina.

4.- La resistencia de S. aureus a meticilina fué del 1.12% menor al reportado en otros países. La resistencia esta disminuida probablemente porque en México, la Meticilina no ha sido utilizada como un antibiótico de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por S. aureus.

5.- Se demostró "In vitro" que Ticarcilina-Ácido clavulánico, un nuevo antibiótico tiene la habilidad de inhibir bacterias importantes. Debido a lo cual hace que Ticarcilina-Ácido clavulánico sea una posibilidad terapéutica futura.

6.- Se compararon dos métodos de sensibilidad a los antimicrobianos difusión y dilución en agar, encontrandose una buena correlación, lo cual nos indica la confiabilidad de ambos métodos.

7.- Se sugiere establecer criterios firmes sobre la prescripción de antimicrobianos en la clinica y en particular en los hospitales. La determinación periódica de los

porcentajes de resistencia para los antimicrobianos de uso rutinario, de esta manera existirían cepas menos resistentes.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Acute Respiratory infections in children. 1983. Washington D.C. Panamerican Health Organization ref. R.D. 21/1.
- 2.- Aoki, H. and M. Okuhara. 1980. Natural β -lactam antibiotics. Ann. Rev. Microbiol. 34:159-181.
- 3.- Barber, M. 1987. Staphylococcal infection due to penicillin-resistant strains. Br. Med. J. 2:863-865.
- 4.- Bass, J. W. 1986. Treatment of Streptococcal Pharyngitis. revisited JAMA. 6:740-743.
- 5.- Bertron, M.J. y A.J. Forton. 1989. Procesos Infecciosos de vías respiratorias altas, p. 21-26. Pharma consult. S.A., México.
- 6.- Bojail, J. y G. Santoscoy. 1981. Microbiología Médica Tomo I, p. 421-428. Edit. Francisco Méndez O., México.
- 7.- Boletín del Comité de Prevención y control de Infecciones respiratorias hospitalarias. 1982. Patrón de la Resistencia a los antimicrobianos en el Hospital General. Centro Médico "La Raza" (IMSS).
- 8.- Bush, K. 1989. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 33:264-270.

- 9.- Busk, K. 1988. β -Lactamase Inhibitors from Laboratory to Clinic. Clin. Microbiol. Rev. 1:109-123.
- 10.- Calderón, J.E. 1984. Aplicación de Antibióticos y Quimioterápicos, Editorial Francisco Méndez C., México.
- 11.- Cicero, Sabido R. y J. Rhuthy. 1984. Tratado de medicina interna. Academia Nacional de Medicina, p. 60-69. El Manual Moderno.
- 12.- Cohen, J.O. 1972. The Staphylococci, p. 457-482. Wiley-Interscience, New York.
- 13.- Conde, G.C. 1985. Las β -lactamasas y su Importancia Clínico-Microbiológico. Rev. de Infectología. 12:310.
- 14.- Cruz, G. R. 1986. Mecanismos de resistencia de las Enterobacterias a los antibióticos β -lactámicos. Rev. Infectología. 6:148-160.
- 15.- Data on file, Medical Department Beecham Laboratories.
- 16.- Davis, B.D.; R. Dulbecco; H.N. Eisen; H.S. Ginsberg; W.B. Wood and M. McCarty. 1979. Tratado de microbiología, 2a. ed., p. 752-763. Edición Salvat.
- 17.- Denny, F.W.; A.M. Collier and F.W. Hendersen. 1986. Acute respiratory infections in day care. Rev. Infect. Dis. 8:527-532.

- 18.- Douglas, R.M. and M. Miles. 1984. Acute Tonsillitis in children Microbial Patogens in relation to age. Pathol. 16:79-82.
- 19.- Easmon, C.S.F. and C. Adlam. 1983 Staphylococci and Staphylococcal Infections, 2V. Academic Press. London.
- 20.- Frere, J.M. and B. Joris. 1985. Penicillin sensitive enzymes in peptidoglycan biosynthesis. Crit. Rev. Microbiol. 11: 299-396.
- 21.- Gillespie, M.T. and R.A. Skurray. 1986. Plasmids in multiresistant Staphylococcus aureus. Microbiol. Sci. 3:53-58.
- 22.- González, S. Napoleon y A.N. Torales. 1987. Infectología clínica pediátrica, 3a. ed. Editorial Trillas, México.
- 23.- Guiscafré, G.H. 1987. Infecciones Estreptocócicas en: Infectología pediátrica. Editorial Trillas, México.
- 24.- Guiscafré, H., O. Muñoz y G. Gutiérrez. 1987. Normas para el tratamiento de las infecciones respiratorias agudas. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. Vol. 44:58-64.
- 25.- Hitze, R.L. 1980. Hacia un programa mundial de lucha contra las infecciones respiratorias agudas. Crónica de la OMS. 34:113-115.

- 26.- Investigación Médica Internacional. 1989. Beecham, México.
16:3-12.
- 27.- Juárez, G.M. 1990. Determinación del Patrón de Susceptibilidad a timetin, penicilina y ampicilina y producción de β -Lactamasas de bacterias causantes de infección respiratoria aguda (IRA) moderada y grave de pacientes hospitalizados. Tesis de Lic. QBP. ENCB. IPN. México.
- 28.- Kloos, E.W. and K.H. Schleifer. 1975. Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species. Journal Clinical Microbiology. 1:82-88.
- 29.- Krugman, S. y S.L. Katz. 1985. Enfermedades infecciosas, 7a. ed., p. 346-353. Editorial Interamericana. México.
- 30.- Kumate, J. y Gutiérrez G. 1986. Manual de Infectología. 11a. ed. Francisco Méndez C. Editor, México.
- 31.- Lennette, H.E.; A. Balows; W.J. Hausler and J.P. Truant. 1985. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed., p. 143-153, 959-990, 1005-1008. A.S.M. Washington, D.C.
- 32.- Libby, J.S. and J.J. Landolo. 1988. Genetics of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. APUA Newsletter. 6:2-3.

- 33.- Lyon, R.B. and R. Skurray. 1987. Antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus genetic basis. Microbiol. rev. 51:88-134.
- 34.- Manual de Normas para el control de las infecciones respiratorias agudas. 1985. Dirección general de medicina preventiva. Secretaría de salud, México.
- 35.- Montesano, C.R. y A.V. Cardenas. 1988. Infecciones respiratorias agudas. Epidemiología Sector salud. Secretaría de programación y presupuesto. 3:13-19.
- 36.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 4th ed. M2-T4. 8(7).
- 37.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 2nd ed. M7-T2. 8(8).
- 38.- Neu, HC. 1984. Beta-lactamasas. A perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance. Post. grad. Med. (special report). p. 7-22.
- 39.- Neu, HC. 1983. The Emergence of bacterial resistance and its influence on empiric therapy. Rev. Infect. Dis. 5:9-20.
- 40.- Organización Panamericana de la salud O.M.S. Determinación

del valor patognómico del cuadro clínico en el tratamiento de IRA en niños pequeños It/PM/ARI.

- 41.- Organización Panamericana de la salud (eds). 1985. Infecciones respiratorias agudas en niños. Washington. (pub. Científica No. 493).
- 42.- Organización Panamericana de la salud. 1982. Pruebas rápidas para el diagnóstico de las enfermedades respiratorias agudas causadas por bacterias. Bol. OPS 92:361-365.
- 43.- Pennigton, J.E. 1988. Respiratory infections: Diagnosis and management. Community-acquired pneumonia and acute bronchitis. 2nd. ed., p. 159-170. Raven Press. New York.
- 44.- Petersdorf, R.G. 1988. Pneumonia: Past, Present and Future. 1988. IN:Pennington J. ed. Respiratory infections diagnosis and management. 2nd. ed. p. xi-xiv. Raven Press. New York.
- 45.- Pio, A., J. Leowski y F. Luelmo. 1984. Programa de la Organización mundial de la salud de infecciones respiratorias agudas en la infancia. Bol. Of. Sanit. Panam. 96:283-293.
- 46.- Plorde, J.J. and J.C. Sherris. 1974. Staphylococcal resistance to antibiotics: origin, measurement, and

epidemiology. Ann. N.Y. Acad. Sci. 236:413-434.

- 47.- Poston, S.M. and J.L. Naidoo. 1983. Genetics and antimicrobial drug resistance in the Staphylococci. p. 63-119. In C.S.F. Easmon and Adlam (ed.).
- 48.- Quintiani, R. 1984. Bacterial resistance to β -Lactam antibiotics. Infections in Medicine. 1:11-14.
- 49.- Reynolds, P.E. 1985. Inhibitors of bacterial cell walls synthesis. Symp. Soc. Gen. Microbiol. 38:13-40.
- 50.- Rountree, P.M. and A.M. Vickery. 1973. Further observations on Methicillin-resistant Staphylococci. Med. J. A. 1:1030-1034.
- 51.- Ruiz, G.J. 1979. Infección respiratoria. Estudio de 133 familias. Gac. Med. Mex. 115:347-358.
- 52.- Saunders, J.R. 1984. Genetics and evolution of antibiotic resistance. Br. Med. Bull. 40:54-60.
- 53.- Schugurensky, A., P. Cahn, G. Osatnik, J. Zorzopulos, A.R. Trevisan and C.D. Denoya. 1984. An outbreak of multiple resistant Staphylococcus aureus in Buenos Aires. 44:8-14.
- 54.- Shauson, D.C. 1981. Antibiotic resistant Staphylococcus aureus. J. Hosp. Infect. 2:11-36.

- 55.- Spratt, B.G. 1983. Penicillin-binding proteins and the future of β -Lactam antibiotics. J. Gen. Microbiol. 129 1247-1260.
- 56.- Thornsberry, C. and R.N. Jones. 1985. Beta-Lactamase Inhibitors. Rev. Infect. Dis. p. 17-21.
- 57.- Trejo, P.J., G. Ortiz, M. García, y cols. 1981. Susceptibilidad de Staphylococcus aureus a penicilina, dicloxacilina, gentamicina, eritromicina y rifampicina. Bol. Med. Hosp. Infant. México. 38:873-880.
- 58.- Woolfrey, F.B. 1988. Penicillin Tolerance in group A Streptococci. J. Infect. Dis. 158:487-488.
- 59.- Yogeve, R. M.D. The role of β -Lactamase inhibitors in pediatrics. Associate profesor, Department of pediatrics. Division of infectious diseases.