



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA

Determinación de la resistencia a antibióticos en cepas de  
*Staphylococcus aureus* aisladas de las fosas nasales de  
portadores asintomáticos

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

**ERIKA MARIA CORNEJO BARCENAS**

DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS



TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO

FEBRERO 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

*He dejado la pupa que me ha madurado  
Ahora eclosionando me encuentro  
Comienzo a ver la luz que me ciega  
Pero me fascina su resplandecencia eterna  
Ahora es tiempo de volar, de surcar los aires  
De conquistar fronteras y de visitar lugares  
Lugares que dejan de ser sueños  
Y que se convierten en realidades  
Ahora estoy madurando  
Dando los frutos que he reposado.  
Gracias dios mío, por mis logros obtenidos.*

*Martin Vega*



## **DEDICATORIAS**

**Antes que nada, dedico esta tesis a Dios por haberme dejado llegar hasta este momento, dándome fuerzas en los momentos de desesperación y en cada viacruzis que sufrí para seguir adelante, acompañándome en cada momento e indicarme el camino para cumplir mis sueños.**

**A mis papis Francisco Javier Cornejo Rosas y Reyna Bárcenas Velásquez por haberme dado la vida, por siempre estar conmigo, por apoyarme, cuidarme, quererme; por ser los mejores papas del mundo y por que los adoro incondicionalmente.**

**A mis carnales Lázaro, Juan, Lupe, Martin y Carlos, por que siempre me estuvieron apoyando e impulsando para llegar hasta este momento (los quiero mucho hermanitos).**

**A mis sobrinos Bibi, Nais, Bob, Gitzy, Julieta, Natas y Esme por contagiarme su alegría y su alma de niño.**

**A Martincito (Tipikino) por siempre haberme apoyado en los momentos mas difíciles de mi vida, por haberme ayudado a terminar mi carrera, por haberme impulsado a ser mejor persona cada día, por ayudarme a cumplir mis metas y sueños y por todo eso y mas: NOYOLO NIMIZNIKE.**

**Al todos mis animalitos y los ajenos también: Sultán, Camila, Lulu y Chispita, por muchos ratos de alegría, por ayudarme en mis momentos de estrés y oírme aunque no me contestaran con palabras.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Agradezco a mi asesora de tesis M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras por su atención y valiosos consejos para poder realizar esta tesis y por el apoyo incondicional que siempre me dio. GRACIAS.**

**Al M. en C. Eric Monroy Perez por su total apoyo para hacer este sueño realidad, por su atención, por su tiempo, por sus consejos y por su apoyo, en toda y cada una de estas hojas.**

**A Susa, Oli e Ime por haberme enseñado y aconsejado desde el momento en que inicio este proyecto.**

**Al Profe Luis Antonio Hernández por su apoyo desde el inicio de la carrera, por darme ese empujoncito que siempre necesitaba, por sus sabios consejos de amigo y maestro, por soportar mis necesidades e indecisiones y por indicarme siempre el buen camino “Gracias Profe Luis”.**

**A todos mis sinodales por sus valiosos consejos y aportaciones a esta tesis.**

**A mis amigochos: Tipikin, Carlitos, sujeto boy (Dany), Vane y todos los demás cuates que me brindaron su amistad y sus consejos, por brindarme esos momentos inolvidables de alegría. “Los Quiero Mucho”**

# **INDICE**

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCION</b>	<b>2</b>
Morfología y características de <i>Staphylococcus aureus</i>	
Factores de virulencia	
Patología	
Resistencia a antibióticos	
Mecanismos de acción y de resistencia bacteriana a los antibióticos	
Resistencia bacteriana a los antibióticos $\beta$ -lactámicos	
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>21</b>
Pacientes analizados	
Identificación de las cepas	
Determinación de la CMI de los antibióticos	
Determinación de la resistencia a meticilina	
Detección de $\beta$ -lactamasas	
<b>RESULTADOS</b>	<b>25</b>
Pacientes analizados	
Resistencia a antibióticos	
Resistencia a Meticilina	
Concentración Mínima Inhibitoria en cepas MRSA	
Concentración Mínima Inhibitoria en cepas MSSA	
Detección de $\beta$ -lactamasas	

<b>DISCUSION</b>	<b>50</b>
Bacterias aisladas	
Resistencia de las cepas de <i>S. aureus</i> a la meticilina (MRSA)	
Resistencia a Penicilina	
Resistencia a Ampicilina	
Resistencia a Cefuroxima	
Resistencia a Ceftriaxona	
Resistencia a Dicloxacilina	
Resistencia a Cefalotina	
Resistencia a Vancomicina	
Resistencia a Ampicilina más Sulbactam	
Producción de $\beta$ -lactamasas	
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>61</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>63</b>

## RESUMEN

El propósito de este trabajo fue determinar *in vitro* la eficacia de antibióticos contra cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de las fosas nasales de portadores asintomáticos. Las cepas de *S. aureus* fueron identificadas por la fermentación de manitol y la prueba de la coagulasa. La susceptibilidad a la meticilina se determinó mediante el uso de discos con oxacilina. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) a los antibióticos se determinaron por el método de dilución en placa. La producción de  $\beta$ -lactamasas se demostró mediante la hidrólisis de la cefalosporina cromogénica nitrocefín. Se muestrearon las fosas nasales de ciento treinta y cinco personas (88 mujeres y 47 hombres). Se aislaron 294 cepas bacterianas [83 cepas de *S. aureus* (28 meticilina resistentes y 55 meticilina susceptibles), 181 de *S. epidermidis*, 20 de *Escherichia coli*, 2 de *Proteus* spp. y 8 de *Klebsiella* spp.]. El 100% de las cepas de *S. aureus* fue resistente a penicilina (CMI<sub>50</sub>= 98.1  $\mu$ g/ml) y ampicilina (CMI<sub>50</sub>= 47.05  $\mu$ g/ml), el 54.87% mostró resistencia a ceftriaxona (CMI<sub>50</sub>= 1.54  $\mu$ g/ml) y el 53.85% a cefuroxima (CMI<sub>50</sub>= 1.26  $\mu$ g/ml). El 100% de las cepas de *S. aureus* fue susceptible a cefalotina (CMI<sub>50</sub>= 0.98  $\mu$ g/ml), dicloxacilina (CMI<sub>50</sub>= 1.12  $\mu$ g/ml), vancomicina (CMI<sub>50</sub>= 0.98  $\mu$ g/ml) y al inhibidor de  $\beta$ -lactamasas ampicilina más sulbactam (CMI<sub>50</sub>= 0.98  $\mu$ g/ml). El 79.52% de las cepas de *S. aureus* fue productora de  $\beta$ -lactamasas. Los resultados reflejaron la elevada frecuencia de *S. aureus* en las fosas nasales de los individuos muestreados, por lo que se sugiere el tratamiento oportuno de estas personas para evitar futuras complicaciones, sobre todo si consideramos la elevada resistencia a los antibióticos probados.

# INTRODUCCION

## **Morfología y características de *Staphylococcus aureus***

El *Staphylococcus aureus* es miembro de la familia *Micrococcaceae*, se agrupan en racimos de uvas, son cocos Grampositivos de 0.5-1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro (Novick, 1993); no móviles, crece formando colonias grandes, redondas, lisas, brillantes, de consistencia cremosa, de color amarillo dorado debido a la producción de pigmentos carotenoides; su formación de pigmento es variable, siendo mayor a temperatura ambiente que a 37°C (Mirvik, *et al.*, 1977); anaerobios facultativos y habitualmente catalasa y coagulasa positivos; no esporulados (Hurtado, *et al.*, 2002). La gran mayoría de las cepas no son capsuladas, pero algunas forman cápsulas que son antigénicamente inmunológicas (Freeman, 1984). También fermentan el manitol y son positivos para la prueba de la desoxirribonucleasa (Hurtado, *et al.*, 2002).

## **Factores de virulencia**

Es productor de una gran variedad de factores de virulencia que incluyen:

- Pared celular: compuesta de peptidoglicano y ácido teicoico con uniones fuertes entrecruzadas que protegen al microorganismo y evita su lisis en condiciones osmóticas rigurosas y es probable que

intervengan en la fijación de la bacteria a los receptores mucosos celulares (Bailey, 1991).

- Proteína A: la superficie de la mayoría de las cepas esta tapizada por esta proteína, la cual se encuentra unida al segmento Fc de las inmunoglobulinas (IgGs), impidiendo la fagocitosis mediada por anticuerpos (Bailey, 1991).
- Cápsula: ciertas cepas la producen para protegerse de la fagocitosis de los neutrófilos polimorfonucleares (Bailey, 1991).

#### Toxinas estafilocócicas:

Toxinas citolíticas (alfa, beta, delta, gamma y leucocidina).

- Toxina alfa: elaborada por la gran mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus*, es citotóxica de muchas células, considerada como uno de los principales factores de las manifestaciones patológicas, posee un poder hemolítico, dermonecrótico y letal (Bailey, 1991).
- Toxina beta: también llamada esfingomielinasa C, es una proteína termolábil tóxica para muchas células, actúa sobre las membranas como una fosfolipasa, se aísla del 10 al 20% de humanos (Novick, 1993).
- Toxina delta: es una proteína heterogénea, grande y termoestable, es escasa y poco estudiada (Novick, 1993).

- Toxina gamma: es termorresistente, capaz de lisar los hematíes de diversas especies, no se ha determinado su modo de acción (Hurtado, *et al.*, 2002).
- Leucocidina: ataca los leucocitos y los destruye, interfiriendo así un importante mecanismo de defensa del huésped. Es una proteína oxígeno lábil, que altera la permeabilidad de los leucocitos (Freeman, 1984).
- Toxina exfoliativa: es una proteína simple, antigénica e induce la formación de anticuerpos tanto neutralizantes como precipitantes, causa el síndrome de la piel escaldada estafilocócica, se han identificado dos formas distintas, la A (termoestable) y la B (termolábil) (Freeman, 1984).
- Toxina 1 del síndrome del shock tóxico: es una exotoxina que actúa como superantígeno, producida por algunas cepas de *S. aureus* y ocasiona el síndrome del shock tóxico (Freeman, 1984).
- Enterotoxinas: relacionadas con la intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus*, son proteínas relativamente termoestables, su producción está codificada en plásmidos, en el cromosoma o en fagos temperados. Hay cinco tipos inmunológicos bien caracterizados (A, B, C, D y E) cuyo peso molecular varía desde 28000 a 3500 daltons. Se ha

descrito un sexto tipo denominado enterotoxina F (Hurtado, *et al.*, 2002).

#### Enzimas estafilocócicas:

- Coagulasa: capaz de coagular el plasma de ciertas especies (sobre todo del hombre y conejo), hay dos tipos: la libre que es proteica, es termorresistente, es débilmente antigénica, actúa por activación de una sustancia parecida a la protrombina, y la de unión que actúa directamente sobre el fibrinógeno, al que transforma en fibrina insoluble y hace que los estafilococos formen grumos (Bailey, 1991).
- Catalasa: es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno y agua, protege a los microorganismos del  $H_2O_2$  tóxico que se acumula durante el metabolismo bacteriano y es liberado después de la fagocitosis; se encuentra anclada en la membrana citoplasmática de la célula del *Staphylococcus aureus* (Hurtado, *et al.*, 2002).
- Hialuronidasa: También es factor de virulencia al licuar el ácido hialurónico, sustancia fundamental de los tejidos conjuntivos, favoreciendo la difusión. Antigénicamente homogénea aunque se observan múltiples formas moleculares (isoenzimas), incrementa el

poder de invasión de los estafilococos. No todas las cepas la producen. (Hurtado, *et al.*, 2002).

- Fibrinolisisina: también llamada estafilocinasa es originada casi por todas las cepas de *S. aureus* y puede disolver los coágulos de fibrina (Bailey, 1991).
- Lipasa: hidroliza los lípidos, es específica de *S. aureus*, la producen el 96% de las cepas; son un factor de virulencia importante, al favorecer la diseminación de la infección por los planos adiposos. Hay dos clases de lipasas: trigliceridasas y fosfolipasas (Hurtado, *et al.*, 2002).
- Nucleasa: tiene una endonucleasa y una exonucleasa, sirve como marcador de *S. aureus* (Hurtado, *et al.*, 2002).
- Desoxirribonucleasa: la DNAsa termoestable también es específica de *S. aureus*, incluso más que la coagulasa. Su papel a nivel de los procesos infecciosos consiste en destruir el ADN de las células muertas, haciendo el pus más fluido (Mirvik, *et al.*, 1977).

### **Patología**

Es residente habitual en individuos sanos, los portadores nasales son el reservorio aislado más importante de infecciones en el hombre (el 20 y 40% de los adultos sanos son portadores nasales) (Freeman, 1984), en ciertas

circunstancias produce infecciones graves y puede ser letal. Debido a su frecuencia en la superficie corporal, se encuentra en posición propicia para invadir siempre que las defensas disminuyan. Es la causa más común de infecciones de las heridas quirúrgicas y traumáticas y de las infecciones superficiales de la piel (Mirvik, *et al.*, 1977).

Es capaz de causar infecciones en cualquier sitio del organismo (Koneman, 1997). Produce enfermedades como bacteriemia, endocarditis, septicemias, meningitis (Navascués, *et al.*, 2003), síndrome del shock tóxico, osteomielitis, infecciones en la piel las cuales pueden ser leves a graves e incluyen abscesos, impétigo, forúnculos, carbúnculo e infecciones sistémicas graves, que pueden asociarse con exfoliación superficial de la epidermis a este tipo se le ha denominado “síndrome de la piel escaldada” (Mirvik, *et al.*, 1977).

El tratamiento de las infecciones por *S. aureus* es un serio problema de salud, debido a que se ha seleccionado como resistente a los antibióticos, situación a la que el hombre ha contribuido de manera importante, debido al uso excesivo, y en muchos casos inapropiado de los antibióticos.

### **Resistencia a antibióticos**

En 1945 Spink Ferris, poco después de que la penicilina G estuviera disponible, comunicó el aislamiento de una cepa resistente de *S. aureus* que producía una  $\beta$ -lactamasa (penicilinas) que inactivaba el antibiótico. Si bien

al principio aparecía en forma esporádica, este tipo de resistencia se difundió rápidamente a muchos aislamientos de *S. aureus* (Mandell, *et al.*, 1997). Para resolver este problema apareció un nuevo antibiótico la meticilina en 1957. Sin embargo en 1961 empezaron a aparecer cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) (García, *et al.*, 1997). En los años 70 las cepas MRSA habían invadido Europa, Estados Unidos, Australia y Asia Oriental. Su mecanismo de resistencia neutralizaba no solo la penicilina y meticilina, sino todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (Gómez, *et al.*, 1992).

En los Estados Unidos la proporción de MRSA aumentó del 2% en 1975 a 35% en 1996, en Japón encontraron que el 60% de 7000 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en 1992-1993 eran MRSA (Panlilio, *et al.*, 1992). Se estima que, actualmente, en Estados Unidos el 25% de los *Staphylococcus aureus* nosocomiales son MRSA (Panlilio, *et al.*, 1992). En Europa la prevalencia varía mucho de un país a otro, siendo superior en los países del sur y en Irlanda. En un estudio multicéntrico sobre cepas aisladas de hemocultivos en 1999, la prevalencia de MRSA oscilaba entre el 0% (Dinamarca, Islandia) y el 53% (Grecia). En España, desde 1986 a 1996, la prevalencia de MRSA, en cepas hospitalarias, aumentó desde el 1.5% al

17.9% y también era diferente entre unas regiones y otras (Torroba, *et al.*, 2000).

Se ha encontrado que la prevalencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a los antibióticos es cada vez mayor, debido a surgen nuevos mecanismos de resistencia que son difíciles de contrarrestar y el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos es mucho más lento (Sussmann, *et al.*, 2001).

### **Mecanismos de acción y de resistencia bacteriana a los antibióticos**

El uso indiscriminado de los antibióticos constituye el principal factor de selección de la resistencia bacteriana a estos agentes. Se ha reportado que los genes que confieren la resistencia bacteriana a los antimicrobianos frecuentemente se encuentran conferidos en plásmidos (Novick, 1993). Los plásmidos representan una fuente importante de la diseminación de la resistencia bacteriana, que se agudiza en los centros hospitalarios, toda vez que se ha reportado que la resistencia bacteriana a los antibióticos puede transferirse de una bacteria a otra, de la misma especie, e incluso de géneros distintos (Iáñez, 1998). En la tabla 1 se aprecian los mecanismos de acción y de resistencia bacteriana a los antimicrobianos.

<b>Antibióticos</b>	<b>Mecanismos de acción</b>	<b>Blanco de acción</b>	<b>Mecanismos de resistencia</b>	<b>Base genética</b>
β-lactámicos - Penicilinas - Cefalosporinas	Inhibición de la síntesis de la pared celular	Proteínas de unión de la penicilina(PBPs)	-Hidrólisis del anillo β-lactámico(β-lactamasas)  -Alteración del blanco(PBPs)	Plásmido y cromosoma
Macrólidos y lincosamidas	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	-Metilación del material ribosomal 23s(metilasa)  -Hidrólisis de la lactona de eritromicina (eritromicinesterasa)	Plásmido y cromosoma
Cloranfenicol	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	Modificación del antibiótico evitando su unión al ribosoma(cloranfenicol acetil transferasa)	Plásmido
Aminoglucósidos -Estreptomicina -Neomicina -Kanamicina -Gentamicina	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	-Modificación del antibiótico impidiendo su transporte (acetil transferasa, fosfatidil transferasa, adenil transferasa metilasa )  -Modificación de la subunidad 50s del ribosoma  -Disminución de la captación por la célula	Plásmido y cromosoma  Plásmido  Cromosoma
Quinolonas y ácido nalidixico	Inhibición de la Replicación, Transcripción, Recombinación, y Superenrollamiento del ADN	ADN girasa	- Mutación sobre ADN girasa(ADN girasa)  -Disminución de la permeabilidad  -Eflujo	Cromosoma  Cromosoma  Cromosoma
Tetraciclinas	Inhibición de la síntesis de proteínas	Proteína de la subunidad ribosómica 30s	Interferencia con el transporte de la droga (proteínas inducibles)	Plásmido
Sulfonamidas Trimetoprim	Inhibición de la síntesis de ácido fólico		Síntesis de vía alterna no sensible al fármaco	Plásmido

Tabla 1. Principales mecanismos de acción y de resistencia bacteriana a los antibióticos.

## **Resistencia bacteriana a los antibióticos $\beta$ -lactámicos**

El principal mecanismo de resistencia bacteriana a los  $\beta$ -lactámicos, se debe a la producción de  $\beta$ -lactamasas, las cuales hidrolizan el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico, originando un compuesto sin actividad antibacteriana (ácido peniciloico). Estas enzimas se encuentran codificadas por plásmidos, lo que facilita la diseminación entre los estafilococos (Sykes, *et al.*, 1976).

Las  $\beta$ -lactamasas son excretadas extracelularmente y destruyen el antibiótico antes de que entre en contacto con la superficie de la célula (Rosendahl, 1993).

Los *Staphylococcus aureus* producen cuatro tipos de  $\beta$ -lactamasas (A, B, C y D) que difieren en su estructura solamente en pocos aminoácidos, lo que conduce a tasas de hidrólisis distintas, por ejemplo A y D exhiben enzimas afines que los tipos B y C (Zygmunt, *et al.*, 1992). La clase D es constitutiva, y las demás son inducibles y la mayoría de su actividad es extracelular (Richmond, 1965).

Otro mecanismo que presentan las bacterias a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos es debido a mutaciones cromosómicas que alteran la cantidad, afinidad de

proteínas de membrana externas llamadas PBPs (penicillin binding proteins) (Richmond, 1965). La introducción de la meticilina (compuesto derivado de la penicilina), fue seguida rápidamente por la aparición de cepas resistentes, esta resistencia se debe a la proteína PBP2a que asume las funciones del resto de las PBPs cuando éstas son bloqueadas por los  $\beta$ -lactámicos, permitiendo la supervivencia del microorganismo a concentraciones de antibiótico, en ausencia de PBP2a, sería letal para el *Staphylococcus aureus* (Torroba, *et al.*, 2000). Esta resistencia bacteriana es conocida como intrínseca y se encuentra codificada por el gen cromosómico *mecA* (Navascués, *et al.*, 2003).

## ANTECEDENTES

- Chang y cols. (1995) demostraron la influencia de tres inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam) sobre la actividad de oxacilina contra 46 cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina aisladas de pacientes infectados en el Hospital de la Universidad Nacional de Taiwan. Los resultados demostraron que la producción de  $\beta$ -lactamasas por las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina probablemente juega un rol importante en la resistencia a oxacilina.
- Hammond y cols. (1995) determinaron la resistencia de antibióticos (penicilinas, eritromicina y tetraciclina), en 2286 cepas (*S. aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*) aisladas de las fosas nasales de niños de seis años en Melbourne y Sydney. En este estudio se encontró que el 93.6% las cepas de *Moraxella catarrhalis* fue resistente a penicilina, seguida de *S. aureus* (91.2%) y por ultimo *Streptococcus pneumoniae* (23.3%). La mayoría de las cepas aisladas en este estudio fue productora de  $\beta$ -lactamasas.
- Jiménez, E. (1996) realizó un estudio en 1465 cepas bacterianas aisladas de pacientes de la Clínica Universitaria Iztacala durante 7 años. El 52% de las cepas fue Grampositivas y el resto Gramnegativas. Las especies

bacterianas más abundantes en cada grupo fueron *S. aureus* (44.4% del total y 85.4% de las Grampositivas) y *E. coli* (37.7% del total y 78.7% de las Gramnegativas). *S. aureus* fue la especie más abundante y la que presentó mayor número de cepas multirresistentes a los antibióticos.

- Crespo, V. (1999) determinó la resistencia a antibióticos y metales pesados de 150 cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes infectados del área de Tlalnepantla, Estado de México. Observo que el 94% de las cepas fue resistentes a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, penicilina y ampicilina, el 92% a la cefalosporina de 3ra. generación ceftazidima, el 73% al macrólido eritromicina, el 57% a la quinolona pefloxacina, el 40% a la cefalosporina cefotaxima y a la tetraciclina, el 36% a la penicilina semisintética dicloxacilina, el 32% al trimetoprim con sulfametoxazol y el 24% al aminoglucósido gentamicina.
- Urassa y cols. (1999) determinaron la susceptibilidad a antibióticos en cepas de *S. aureus*, (incluyendo las resistentes a meticilina) aisladas de 67 neonatos, de 114 niños y de 79 adultos infectados que acudieron a un Centro Médico de Tanzania entre Octubre de 1997 y Marzo de 1998. En este trabajo se encontró el 97.3% de las cepas fue susceptible a

cefuroxima, 68.1% a eritromicina, 37.3% a tetraciclina, 6.5 % a penicilina G y 0.4% a meticilina.

- García, M. (2001) comparó la efectividad de los principales grupos de antibióticos  $\beta$ -láctamicos y de un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas (sulbactam/ampicilina) en 73 cepas de *S. aureus* aisladas de diferentes ubicaciones morfológicas de pacientes infectados que acudieron al Laboratorio Clínico de la CUSI-Iztacacla. Sus resultados mostraron que el 85% de las cepas fueron productoras de  $\beta$ -lactamasas.
- López y cols. (2001) demostraron la presencia de cepas de *S. aureus* en las unidades de hemodiálisis del Hospital “Darío Fernández” del ISSSTE, en las pantallas de los monitores, de las mesas anexas, en los sillones, y en el carro de curaciones y en las manos del personal durante los meses de Octubre y Noviembre de 1998, también demostraron que las cepas fueron resistentes a ampicilina, penicilina, ceftazidima, eritromicina y dicloxacilina.
- Nodarse, R. (2001) estudió la susceptibilidad *in vitro* de 100 cepas de *Staphylococcus aureus* y de 100 cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa, en el Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. El origen de las cepas fue intrahospitalario y comunitario. Se detectó resistencia bacteriana a oxacilina, y a penicilina. Las cepas

oxacilina-resistentes mostraron los porcentajes más altos de resistencia a los antimicrobianos.

- Calderon-Jaimes y cols. (2002) determinaron el porcentaje de resistencia a la meticilina y la actividad de varios antibióticos (oxacilina, gentamicina, vancomicina, claritromicina, ceftriaxona, entre otros) en 1209 cepas de *S. aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa procedentes de pacientes del Instituto Nacional de Pediatría y del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Obteniendo que la frecuencia de resistencia de *S. aureus* fue de 14.2% y de 53.4% en los *Staphylococcus* coagulasa negativa.
- Velásquez y cols. (2002) aislaron 609 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de infecciones de herida quirúrgica, neumonía e infecciones cutáneas superficiales entre enero del 2000 y diciembre del 2001 en Lima, Perú. El 74% de las cepas fue resistente a meticilina (MRSA). En este estudio se encontró que la mayoría de las cepas MRSA fue resistente a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, gentamicina, rifampicina, cloranfenicol y tetraciclina.
- Hernández y cols. (2003) realizaron una búsqueda de portadores nasales de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), entre niños sanos atendidos en círculos infantiles y entre niños

hospitalizados expuestos a uno o más factores de riesgo que predisponen para la colonización por este tipo de cepas; durante el período comprendido entre octubre de 2000 a febrero de 2001, en el municipio de Marianao, se encontró que el 0.35% de los niños sanos y el 2% de los niños hospitalizados fueron portadores nasales de cepas de MRSA. En este trabajo se encontró que la mayoría de las fue resistente a penicilina, tetraciclina y eritromicina.

- Mendoza y cols. (2003) aislaron 76 cepas de *S. aureus* en pacientes y personal de salud de tres servicios del Hospital Honorio Delgado de Arequipa, de las cuales 36 fueron sensibles a meticilina (MSSA), 15 con susceptibilidad “borderline” (BORSA) y 25 fueron resistentes a meticilina (MRSA). Las cepas MRSA fueron sensibles a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, excepto a imipenem. El 80% de las cepas BORSA fue sensible a cefalotina y el 100% a imipenem.
- Monroy y cols. (2003) compararon la efectividad de antibióticos  $\beta$ -lactámicos (penicilina, ampicilina, dicloxacilina, cefalotina, cefuroxima, ceftriaxona y ampicilina más sulbactam) en 73 cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes del área de Tlalnepantla, Estado de México. En este estudio se encontró que los antibióticos más

eficaces contra las cepas fueron la cefuroxima, la ceftriaxona y el inhibidor de  $\beta$ -lactamasas ampicilina más sulbactam.

- Cuevas y cols. (2004) estudiaron la evolución de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa en Hospitales de España en el periodo de 1986 al 2002, encontrando que para *Staphylococcus aureus* la resistencia a oxacilina se incremento de un 1.5% a un 31.2%, eritromicina de un 7% a un 31.7%, gentamicina de un 5.2% a un 16.9% y ciprofloxacina de un 0.6% a un 33.9%. Para el caso de *Staphylococcus* coagulasa negativa se observo que la resistencia para oxacilina se incremento de un 32.5% a un 61.3%, eritromicina de un 41.1% a un 63%, gentamicina de un 25.4% a un 27.8% y ciprofloxacina de un 1.1% a un 44.9%. Todas las cepas fueron sensibles a linezolid.
- Cavalcanti y cols. (2005) determinaron la prevalencia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) aisladas de las fosas nasales, axilas, regiones perianales y lesiones en la piel de 231 pacientes de la unidad de cuidados intensivos del Hospital Universitario, Oswaldo Cruz, Recife, Brazil, entre junio y abril del 2003. En este trabajo se encontró que las el 12.98% de las cepas

fueron MRSA y que las fosas nasales fueron el principal sitio de colonización de *S. aureus* (80.4%) y MRSA (26.4%).

- Creech y cols. (2005) analizaron el incremento de colonización de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) en las fosas nasales de 500 niños sanos que acudieron al Centro Medico de Nashville, en el periodo del 2001-2004. En este trabajo se aisló a *Staphylococcus aureus* en el 36.4% de los niños y a MRSA en el 9.2%.
- Kaplan y cols. (2005) en el Hospital de Niños en Texas, vigilaron durante tres años (agosto de 2001 a julio de 2004) a la comunidad que presentaba infecciones en la piel y tejido blando por *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA), observando un incremento del 71.5% (primer año) al 76.4% (tercer año), también observaron un incremento de resistencia bacteriana considerable a clindamicina y estreptogramina B.

# OBJETIVOS

## Objetivo General

- Determinar la resistencia a antibióticos en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de las fosas nasales de portadores asintomáticos.

## Objetivos Particulares

- Aislar cepas de *Staphylococcus aureus* de pacientes asintomáticos.
- Evaluar el efecto de Penicilina, Ampicilina, Dicloxacilina, Cefalotina, Cefuroxima, Vancomicina y Ampicilina más Sulbactam en las cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la resistencia a meticilina en las cepas identificadas.
- Detectar la producción de  $\beta$ -lactamasas en las cepas de *Staphylococcus aureus*.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Pacientes analizados**

Para el desarrollo de este trabajo se muestrearon las fosas nasales de 135 pacientes asintomáticos, que acudieron al laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI), ubicada en la FES Iztacala. Los pacientes se presentaron sin aseo de la nariz de por lo menos 12 horas. Para obtener las muestras se introdujeron dos hisopos estériles (uno en cada fosa), se realizaron movimientos circulares y se depositaron en el medio de cultivo BHI (infusión-cerebro-corazón) y se incubaron a 37°C por 24hr. Finalmente los hisopos se descargaron en los medios de cultivo sólidos, agar sangre, sabouraud, S-110 y EMB (eosina azul de metileno) y se incubaron a 37°C por 24 horas.

### **Identificación de las cepas**

Obtenido el crecimiento bacteriano, las cepas de *Staphylococcus aureus* se identificaron por:

1. Fermentación de manitol. Con un asa estéril se tomaron varias colonias y se inocularon sobre el agar manitol. Si la prueba fue positiva el agar cambió de color rojo a amarillo en un tiempo de 24 horas a 37°C.

2. Prueba de la coagulasa. Se suspendieron varias colonias en 1ml de plasma humano diluido 1:6 con solución salina y se incubó a 37°C. La prueba fue positiva cuando se apreció la formación de un coágulo en un tiempo de 1 a 14 horas.

### **Determinación de la CMI de los antibióticos**

La determinación de la CMI se realizó por el método de dilución en placa en agar Mueller-Hinton, utilizando un sembrador múltiple. Para lo cual se colocó cada cepa de *S. aureus* en caldo nutritivo a 37°C con agitación constante durante 24 horas; cada cultivo se diluyó (1:3) con caldo nutritivo estéril en los pozos del sembrador, para posteriormente realizar las replicas en cajas de agar Mueller-Hinton más diluciones dobles seriadas del antibiótico en el rango de concentración de 1.95 a 2000 µg/ml. Para interpretar los datos de las CMI se utilizaron los puntos de corte establecidos por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2000).

La cepa de referencia que se utilizó como control para la reproducibilidad de este método fue *Staphylococcus aureus* ATCC29213.

La CMI es la concentración mínima del antibiótico que inhibe el crecimiento visible después de incubar a 37°C por 24 horas.

Los antibióticos utilizados se aprecian en la tabla 2 y las concentraciones de estos en la tabla 3.

Nombre del antibiótico	Presentación comercial
Penicilina	Penipot: solución inyectable de 400, 000 unidades en 2 ml
Ampicilina	Penbritin: Ampula de 500 mg en 2ml
Dicloxacilina	Brispen: Ampula de 250 mg en 2ml
Cefalotina	Keflin: Ampula de 1g en 5ml
Cefuroxima	Zinnat: Ampula de 750 mg en 3ml
Ceftriaxona	Rocephin : Ampula de 500 mg en 2ml
Vancomicina	Vancocin : Ampula de 500 mg en 10ml
Ampicilina más Sulbactam	Unasyna: Ampolletas de 500 mg de Ampicilina y 250 mg de Sulbactam en 10ml

Tabla 2. Antibióticos probados en las cepas de *S. aureus*.

µg/ml	Penicilina	Ampicilina	Dicloxacilina	Cefalotina	Cefuroxima	Ceftriaxona	Vancomicina	Ampicilina más Sulbactam
2000	0.80000	0.4000	0.80000	0.50000	0.4000	0.4000	2.0000	0.64000
1000	0.40000	0.2000	0.40000	0.25000	0.2000	0.2000	1.0000	0.32000
500	0.20000	0.1000	0.20000	0.12500	0.1000	0.1000	0.50000	0.16000
250	0.10000	0.0500	0.10000	0.06250	0.0500	0.0500	0.25000	0.08000
125	0.05000	0.02500	0.05000	0.03125	0.02500	0.02500	0.12500	0.04000
62.5	0.02500	0.01250	0.02500	0.01563	0.01250	0.01250	0.06250	0.02000
31.3	0.01250	0.00625	0.01250	0.00781	0.00625	0.00625	0.03125	0.01000
15.6	0.00625	0.00313	0.00625	0.00391	0.00313	0.00313	0.01560	0.00500
7.8	0.00313	0.00156	0.00313	0.00195	0.00156	0.00156	0.00780	0.00250
3.9	0.00156	0.00078	0.00156	0.00098	0.00078	0.00078	0.00390	0.00125
1.95	0.00078	0.00039	0.00078	0.00049	0.00039	0.00039	0.00195	0.00063

Tabla 3. Concentraciones de los antibióticos (µg/ml) utilizados en las cepas Grampositivas aisladas.

### **Determinación de la resistencia a meticilina**

La determinación de la resistencia a la meticilina se realizó por el método de difusión en placa, utilizando discos impregnados con 1µg de oxacilina. Para lo cual se estrió la totalidad de una caja de agar Mueller-Hinton con la cepa de *S. aureus* a determinar, después se colocó un sensidisco sobre la superficie

del agar e incubo la placa a 37°C por 24 horas. Al término se midieron los halos de inhibición por medio de un vernier y las cepas se clasificaron como sensibles o resistentes de acuerdo a los puntos de corte previamente establecidos (tabla 4). (Famiglietti, *et al.*, 2004).

Diámetro del halo de inhibición (mm)	Clasificación
Menor de 10	Resistente
Mayor de 10	Sensible

Tabla 4. Criterios de clasificación de las cepas de *S. aureus* a la meticilina.

### **Detección de $\beta$ -lactamasas**

Se utilizaron discos impregnados con una cefalosporina cromógenica nitrocefin (BBL), para lo cuál un sensidisco se humedeció con una gota de agua estéril y posteriormente se tomó con una asa estéril una colonia aislada crecida en agar S-110 (a 37°C por 24 horas) de la cepa de *S. aureus* y se observó el cambio de color de amarillo a rojo si la bacteria fue productora de  $\beta$ -lactamasas en un periodo máximo de 1-2 minutos (O'Callaghan, *et al.*, 1972).

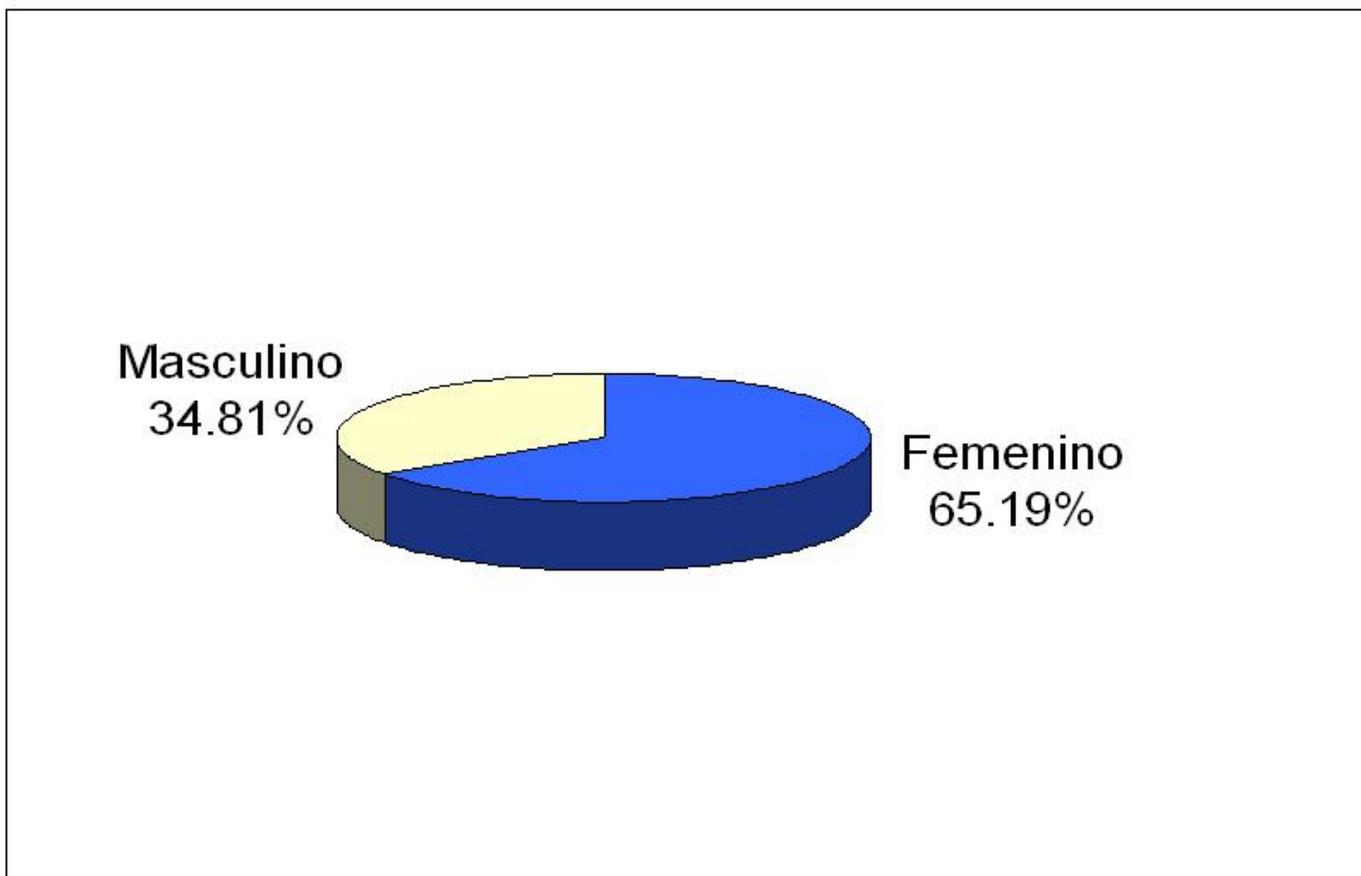
## RESULTADOS

### Pacientes analizados

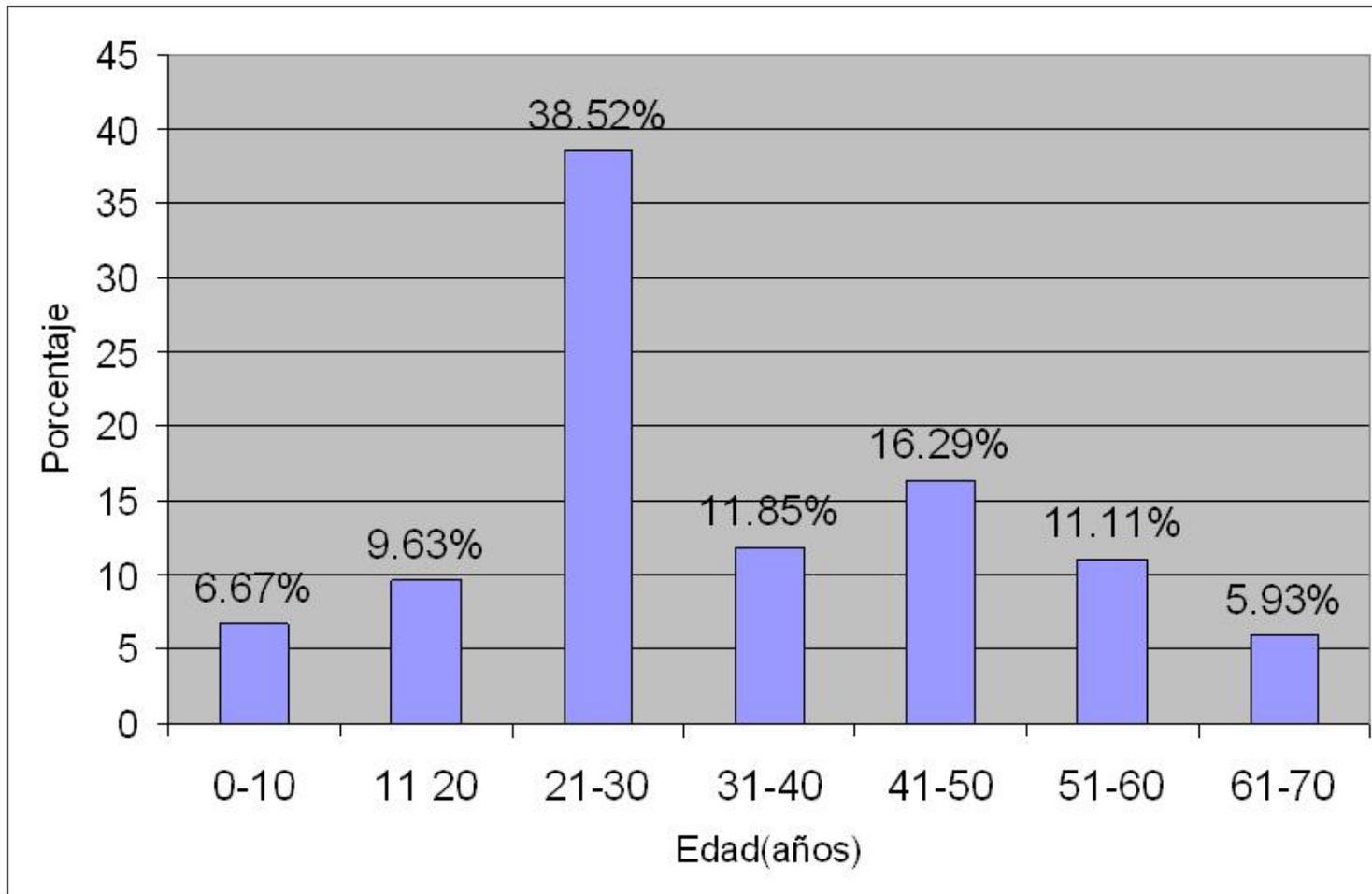
Se analizaron un total de 135 pacientes que acudieron al laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI). Como se aprecia en la Gráfica 1, el 65.19% de los pacientes perteneció al sexo femenino y el 34.81% al sexo masculino.

En la Gráfica 2, se aprecia que la mayoría de los pacientes perteneció al grupo de edad de 21-30 años (38.52%), seguido por los grupos de 41-50 años (16.29%), 31-40 años (11.85%), 51-60 años (11.11%), 11-20 años (9.63%), 0-10 años (6.67%) y 61-70 años (5.93%).

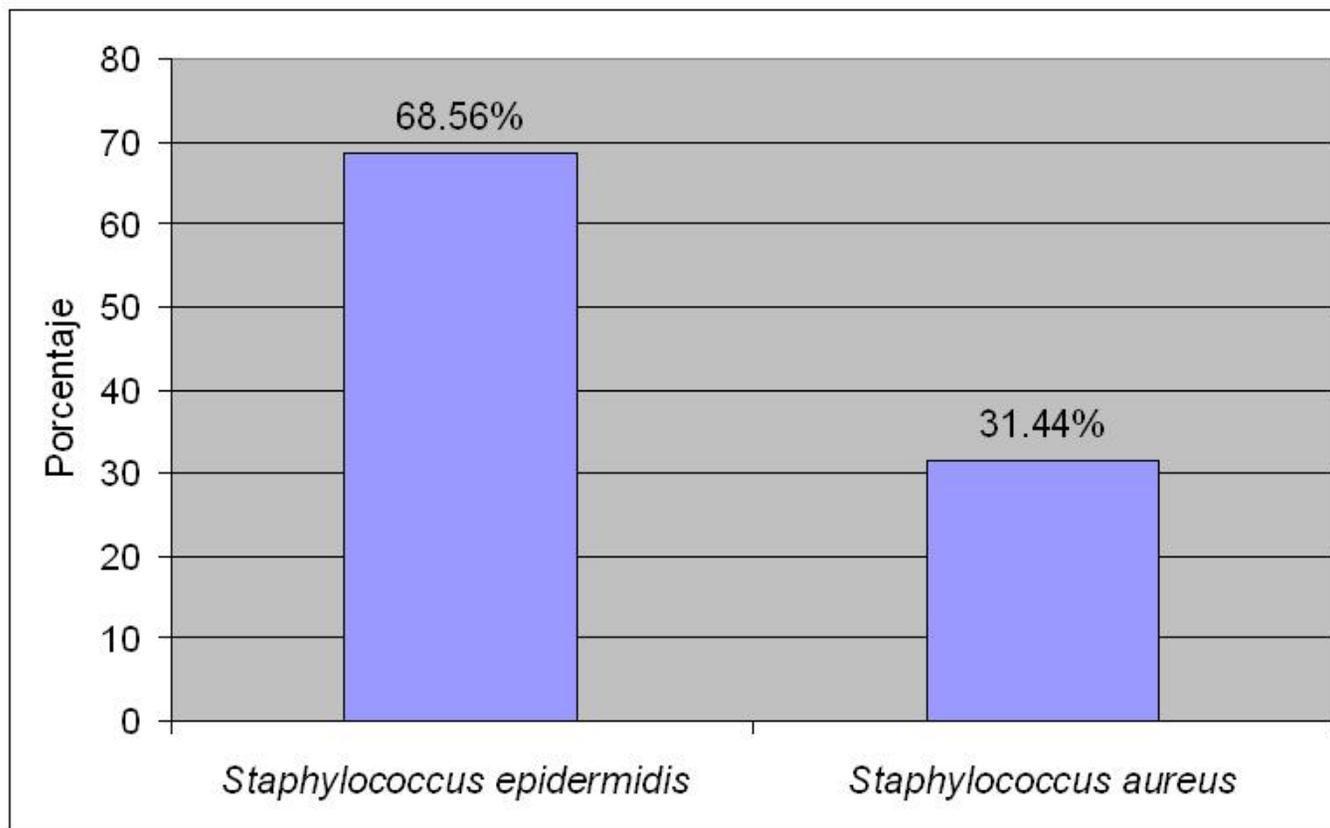
A partir de los 135 pacientes que acudieron al laboratorio clínico se aislaron un total de 294 cepas bacterianas, dentro de las cuales 83 fueron *Staphylococcus aureus* (31.44%) y 181 *Staphylococcus epidermidis* (68.56%) (gráfica 3), 20 *Escherichia coli* (66.66%), 2 *Proteus* spp. (6.67%) y 8 *Klebsiella* spp. (26.67%) (gráfica 4).



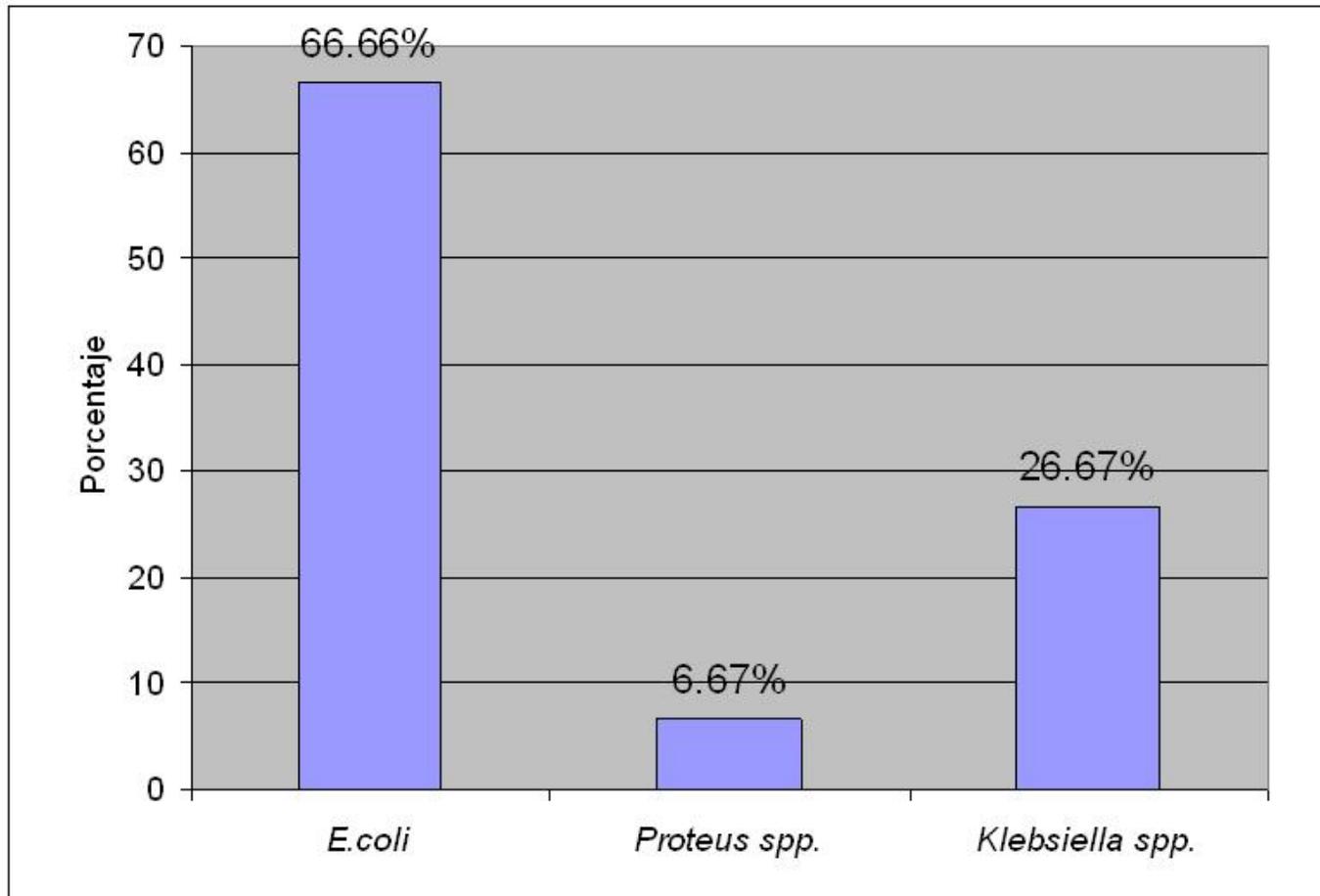
Gráfica 1. Distribución de los pacientes por Sexo



Gráfica 2. Distribución de los pacientes por edad.



Gráfica 3. Porcentajes de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* que se aislaron de pacientes asintomáticos.



Gráfica 4. Bacterias Gramnegativas que se encontraron en 26 pacientes.

## **Resistencia a antibióticos**

### **Resistencia a Meticilina**

De las 83 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas, el 33.73% fue resistente a Meticilina y el 66.27% fue susceptible. (gráfica 5).

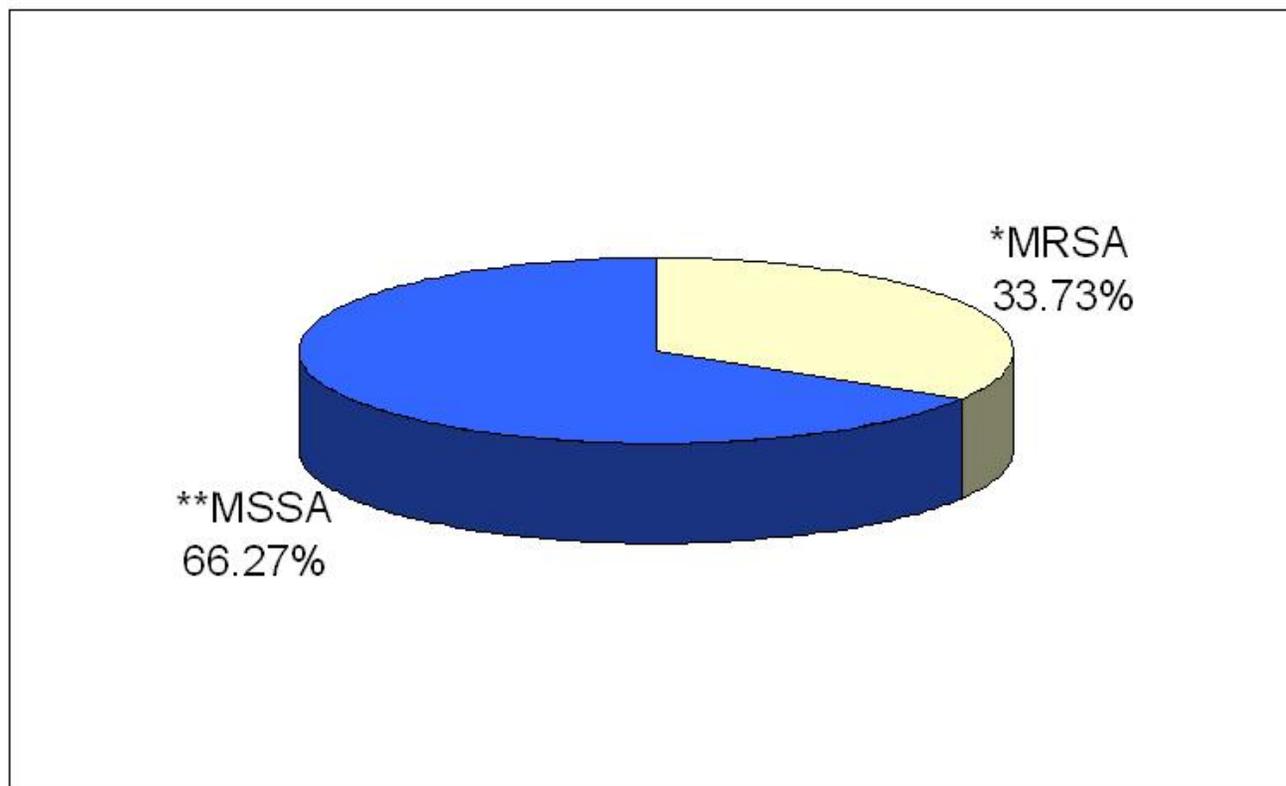
### **Concentración Mínima Inhibitoria en cepas MRSA**

El 100% de las cepas fue resistente a Penicilina ( $CMI_{50} = 98.1 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 892.7 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 6) y a Ampicilina ( $CMI_{50} = 47.05 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 120.35 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 7).

El 54.87% de las cepas fue resistente a Ceftriaxona ( $CMI_{50} = 1.54 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 98.1 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 8).

El 53.85% fue resistente a Cefuroxima ( $CMI_{50} = 1.26 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 142.9 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 9).

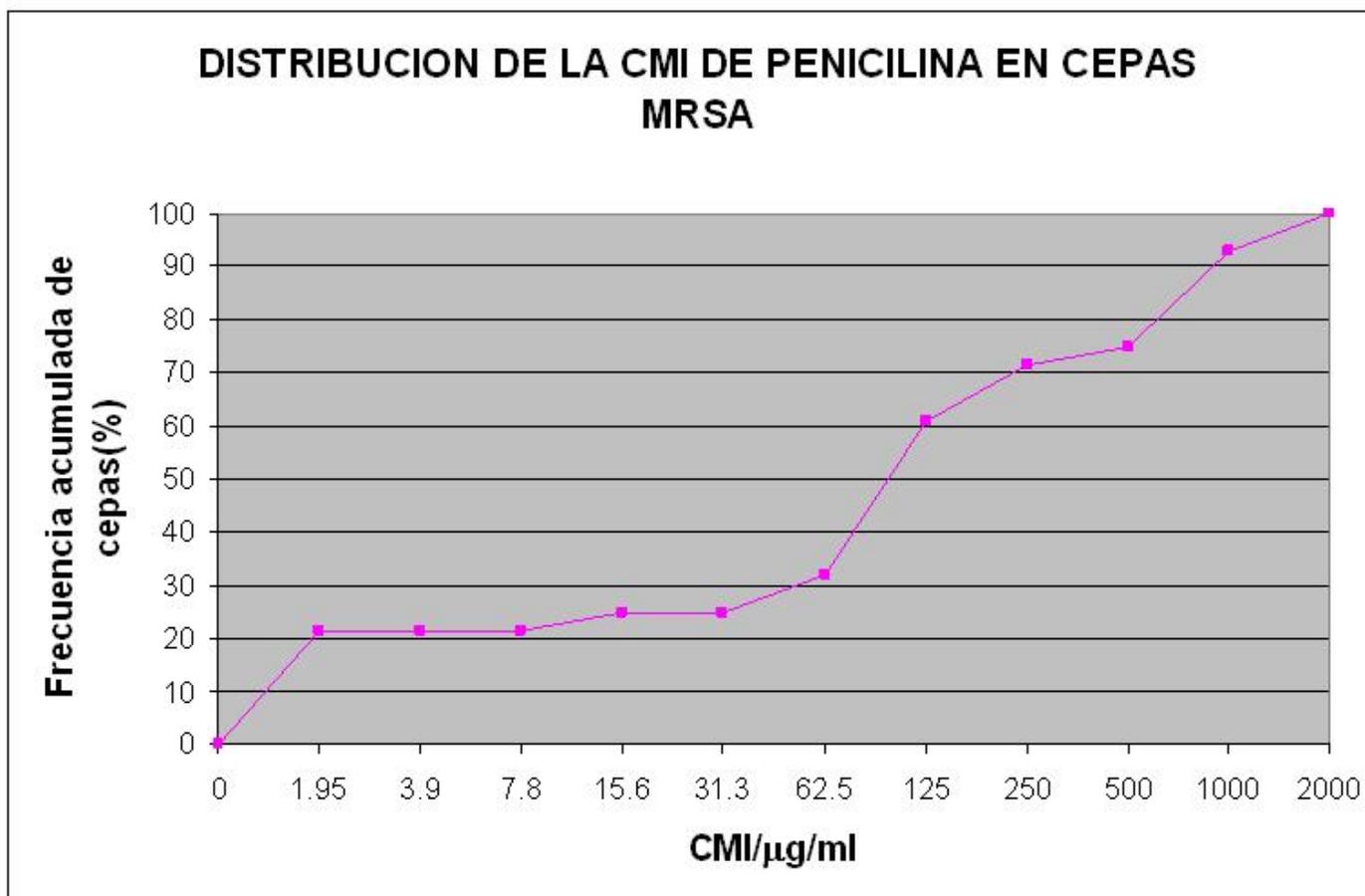
El 100% de las cepas fue susceptible a Dicloxacilina ( $CMI_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 3.49 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 10), Cefalotina ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.95 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 11), Vancomicina ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.93 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 12) y Ampicilina más Sulbactam ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.90 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 13).



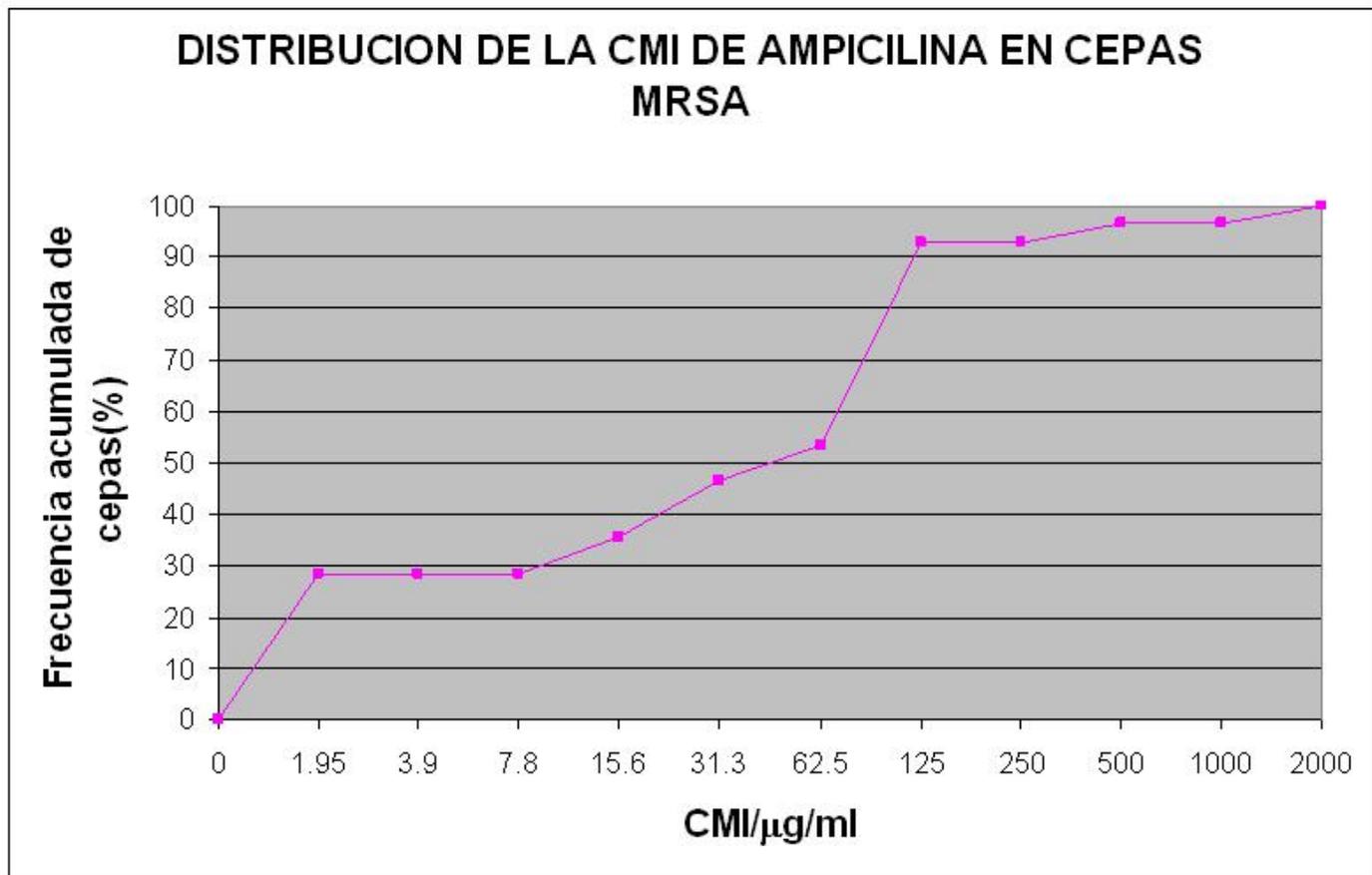
Gráfica 5. Resistencia a Meticilina en cepas de *S. aureus*.

\*MRSA= Meticilina-Resistente *Staphylococcus aureus*

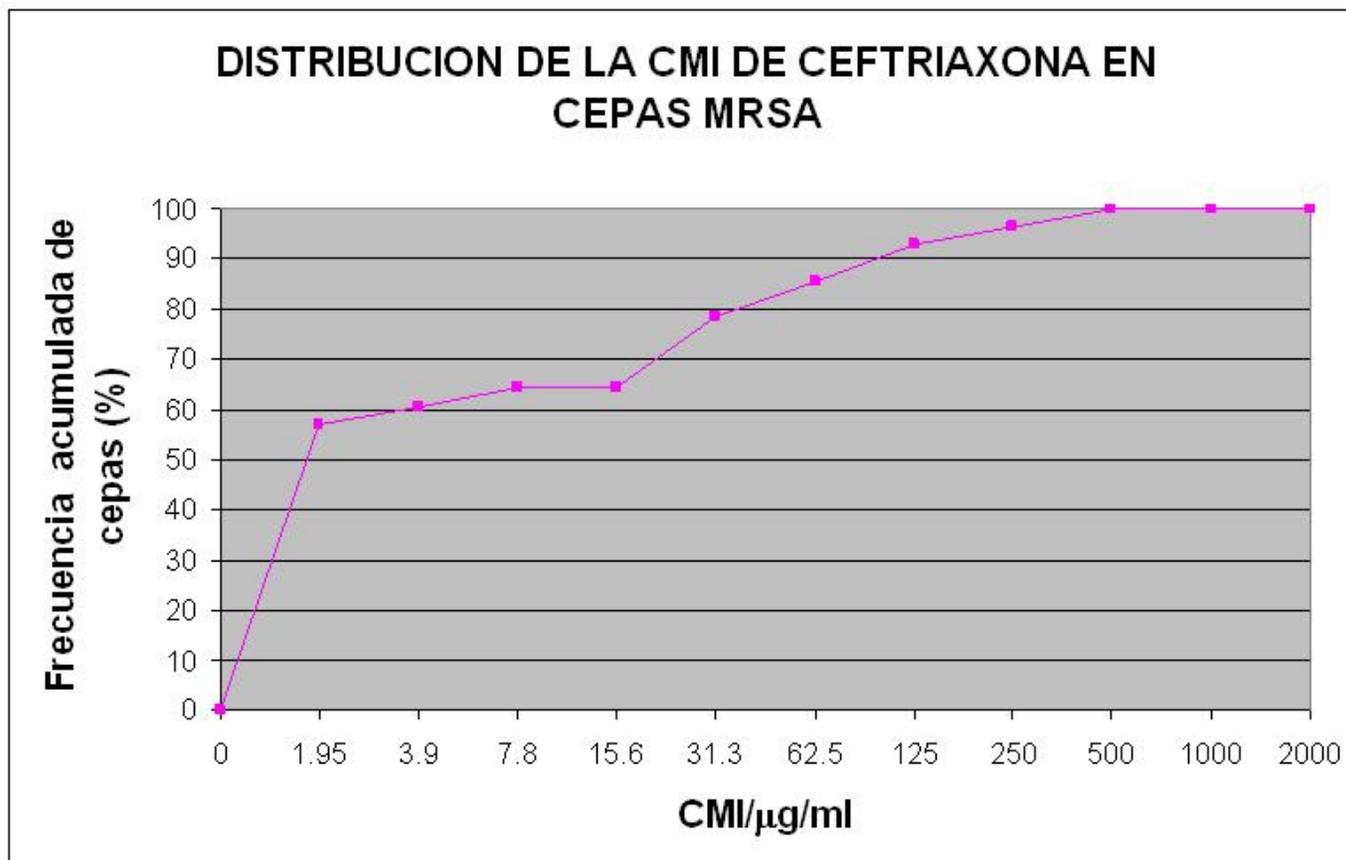
\*\*MSSA=Meticilina-Suceptible *Staphylococcus aureus*



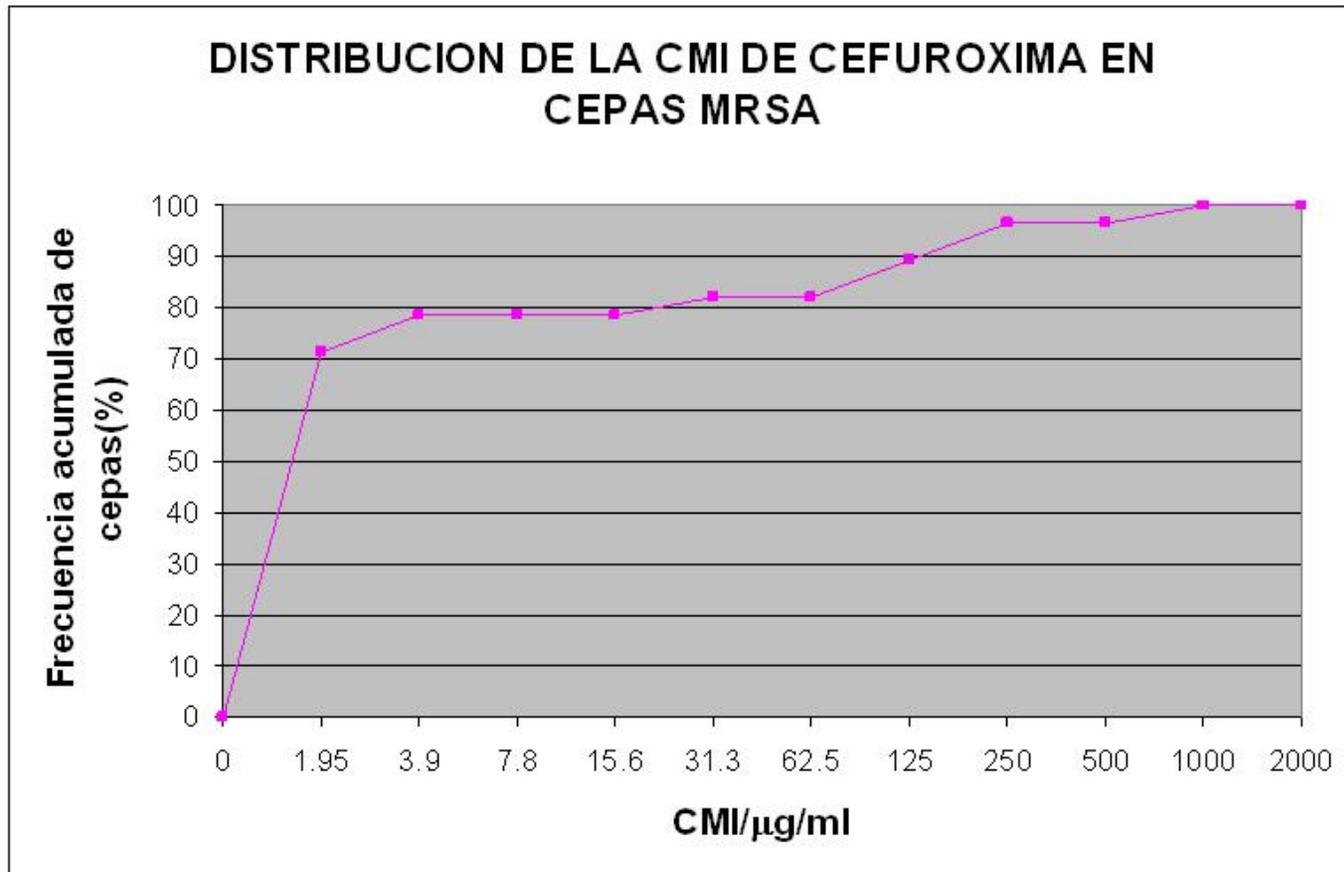
Gráfica 6. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Penicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
 La CMI50 = 98.1 µg/ml y CMI90 = 892.7 µg/ml.



Gráfica 7. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ampicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
 La CMI50 = 47.05 µg/ml y CMI90 = 120.35 µg/ml.

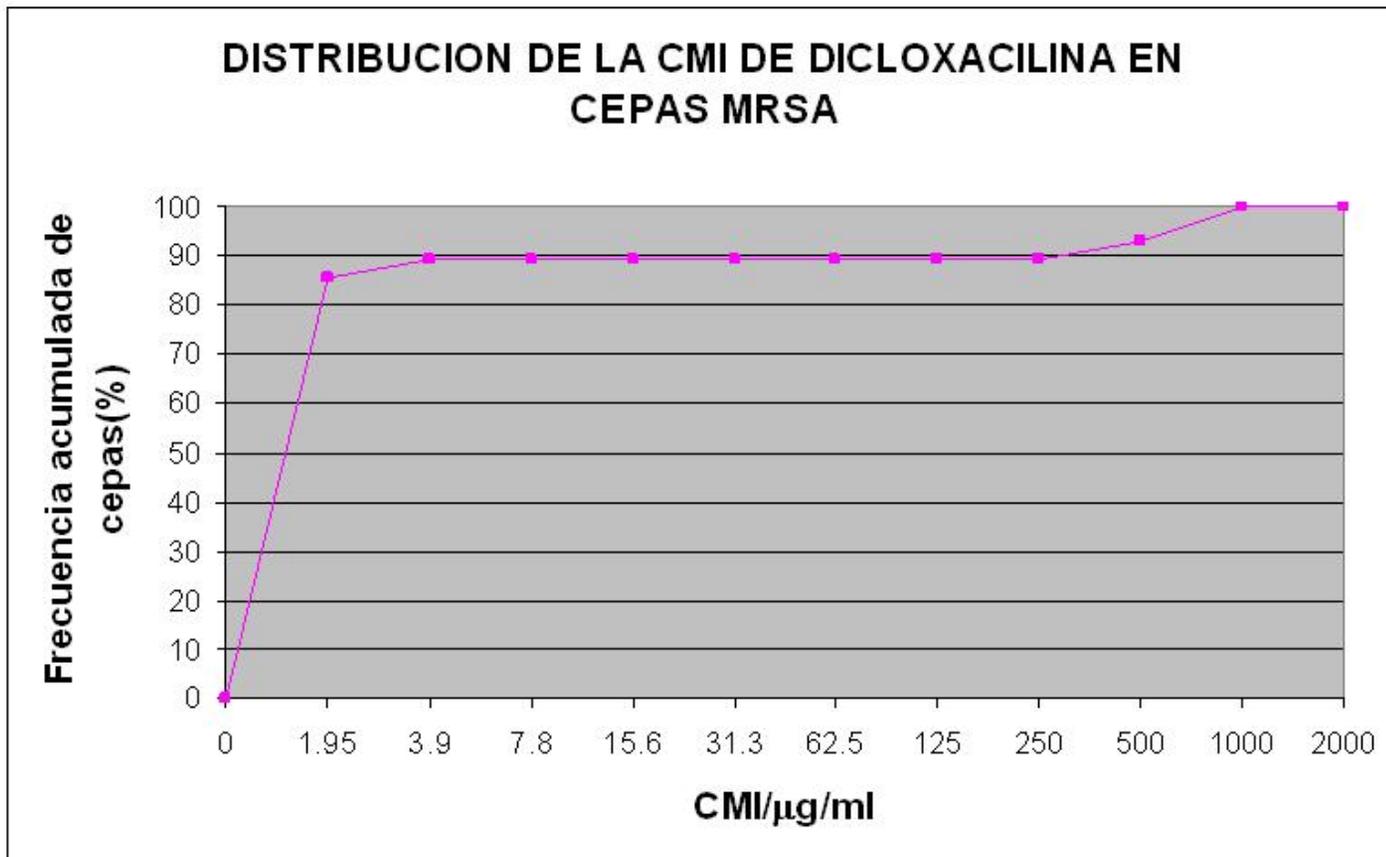


Gráfica 8. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ceftriaxona en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
La CMI50 = 1.54 µg/ml y CMI90 = 98.1 µg/ml.

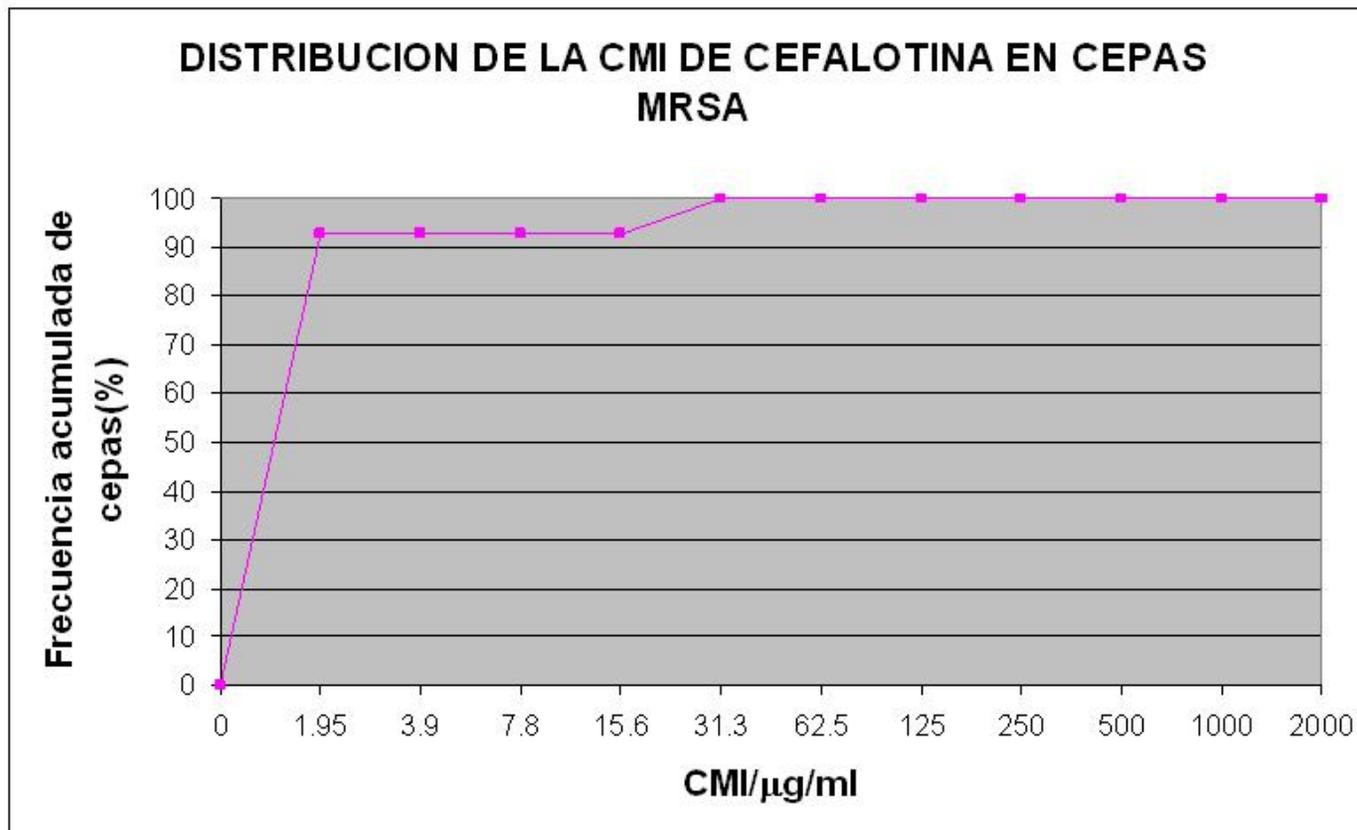


Gráfica 9. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefuroxima en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).

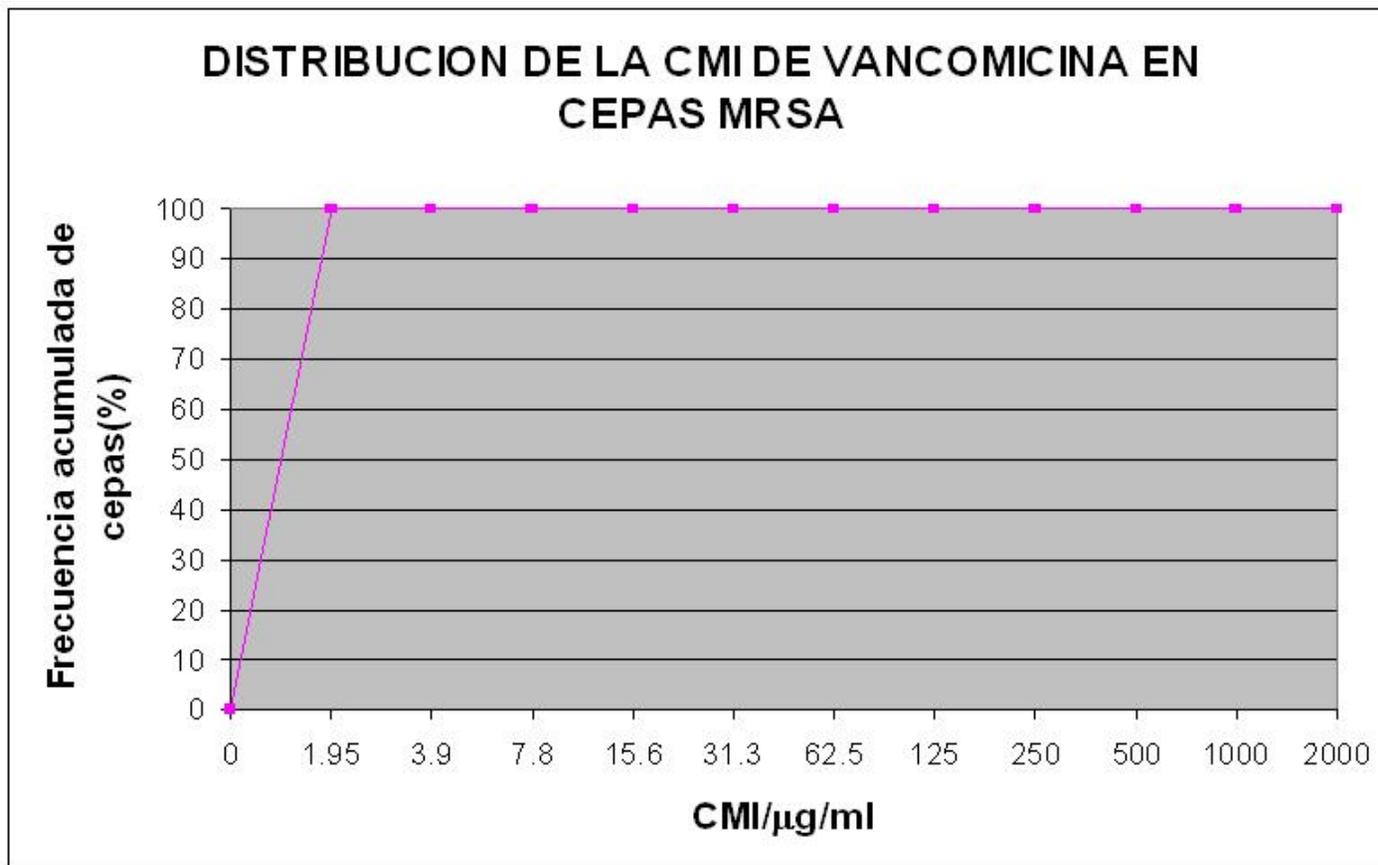
La CMI50 = 1.26 µg/ml y CMI90 = 142.9 µg/ml.



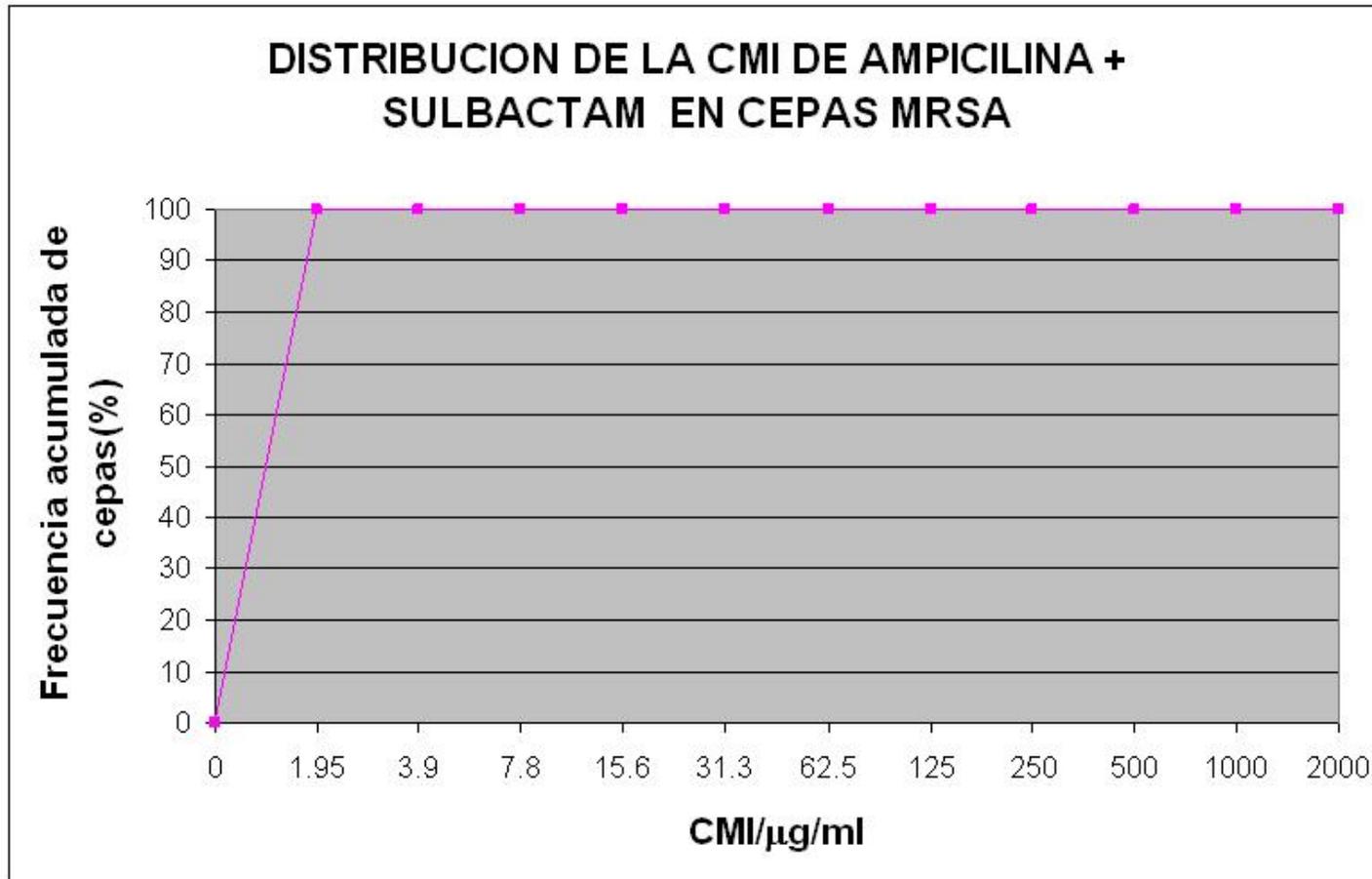
Gráfica 10. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Dicloxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 1.12 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 3.49 µg/ml.



Gráfica 11. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefalotina en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
 La CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.95 µg/ml.



Gráfica 12. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Vancomicina en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.93 µg/ml.



Gráfica 13. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ampicilina más Sulbactam en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).

La CMI50 = 0.98 µg/ml y CMI90 = 1.90 µg/ml

### **Concentración Mínima Inhibitoria en cepas MSSA**

El 100% de las cepas fue resistente a Penicilina ( $CMI_{50} = 1.54 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 205.55 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 14).

El 53.01% de las cepas fue resistente a Cefuroxima ( $CMI_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 71.4 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 15).

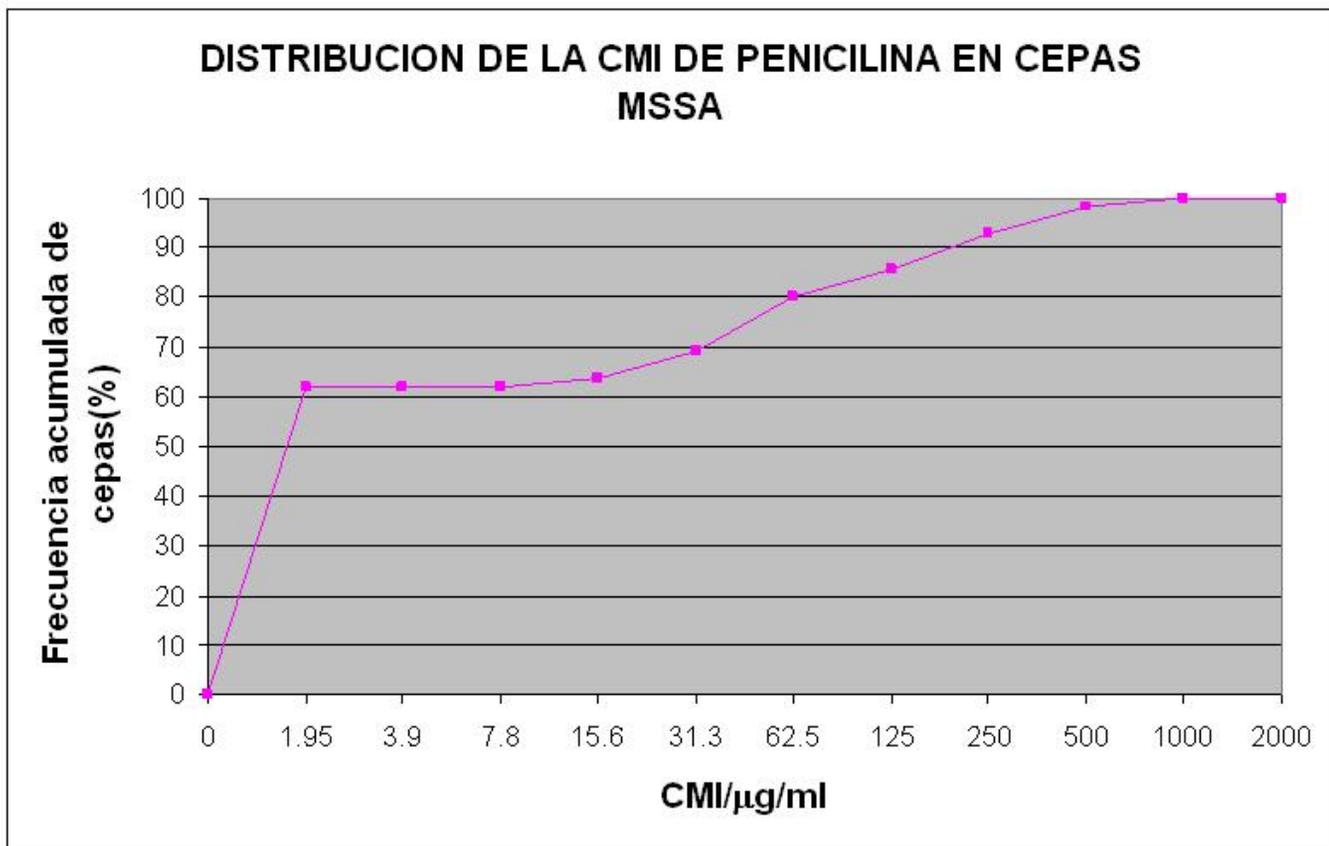
El 47.79% de las cepas fue resistente a Ceftriaxona ( $CMI_{50} = 1.4 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 115.9 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 16).

El 46.87% de las cepas fue resistente a Ampicilina ( $CMI_{50} = 1.54 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 98.1 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 17).

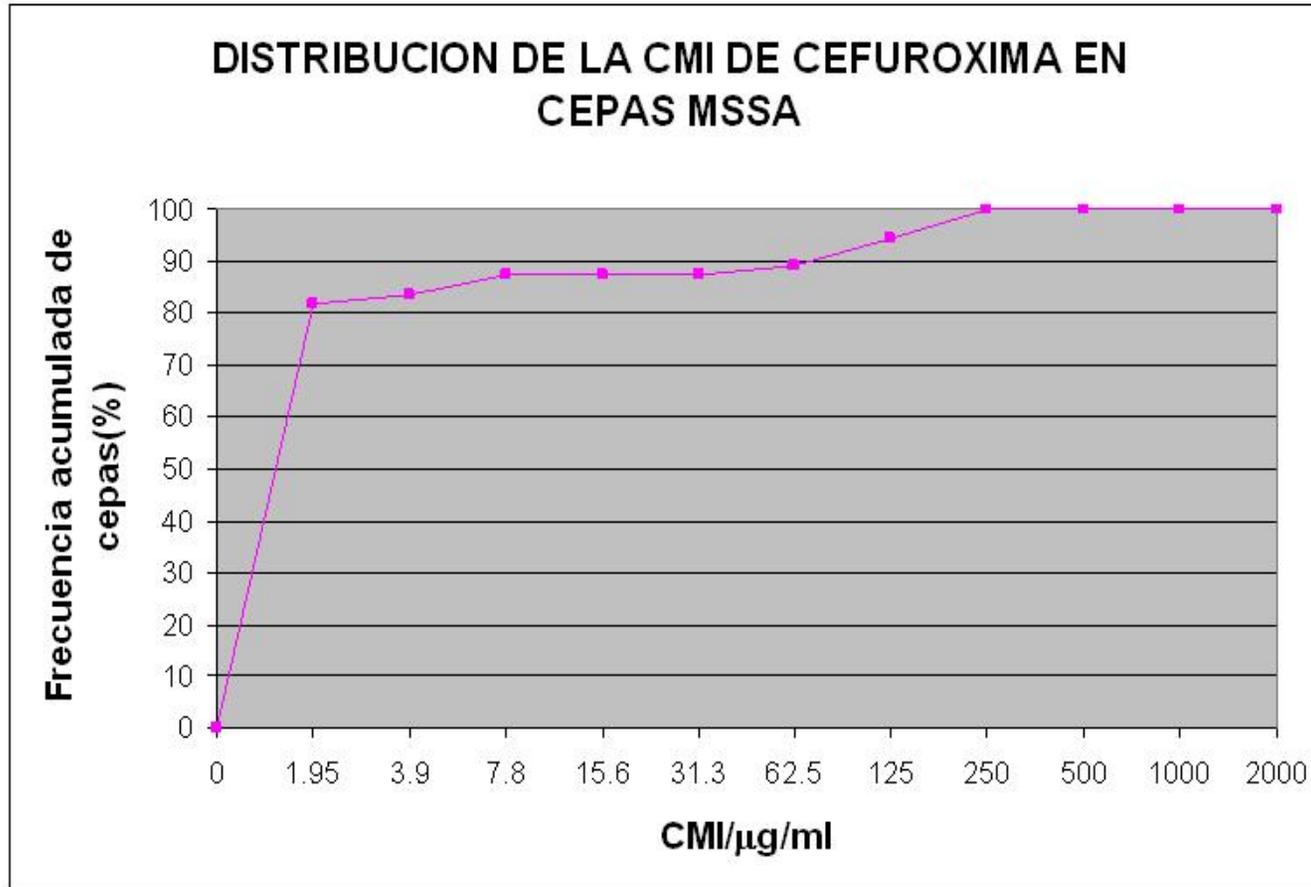
El 100% de las cepas fue susceptible a Dicloxacilina ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.93 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 18), Cefalotina ( $CMI_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.95 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 19), Vancomicina ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.68 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 20) y Ampicilina más Sulbactam ( $CMI_{50} = 1.09 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.82 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 21).

### **Detección de $\beta$ -lactamasas**

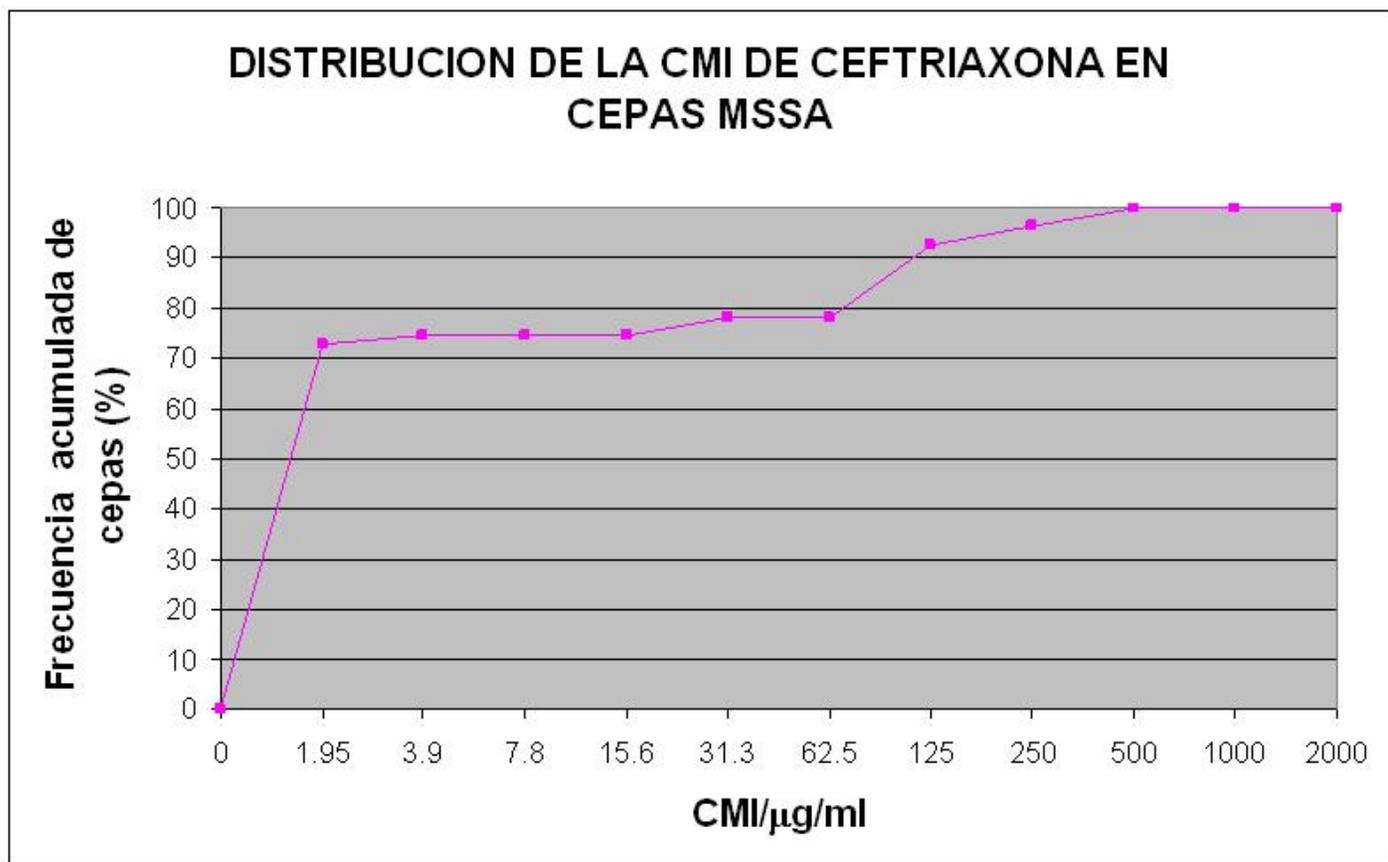
El 79.52% de las cepas fue productora de  $\beta$ -lactamasas y el 20.48% no produjo  $\beta$ -lactamasas (gráfica 22).



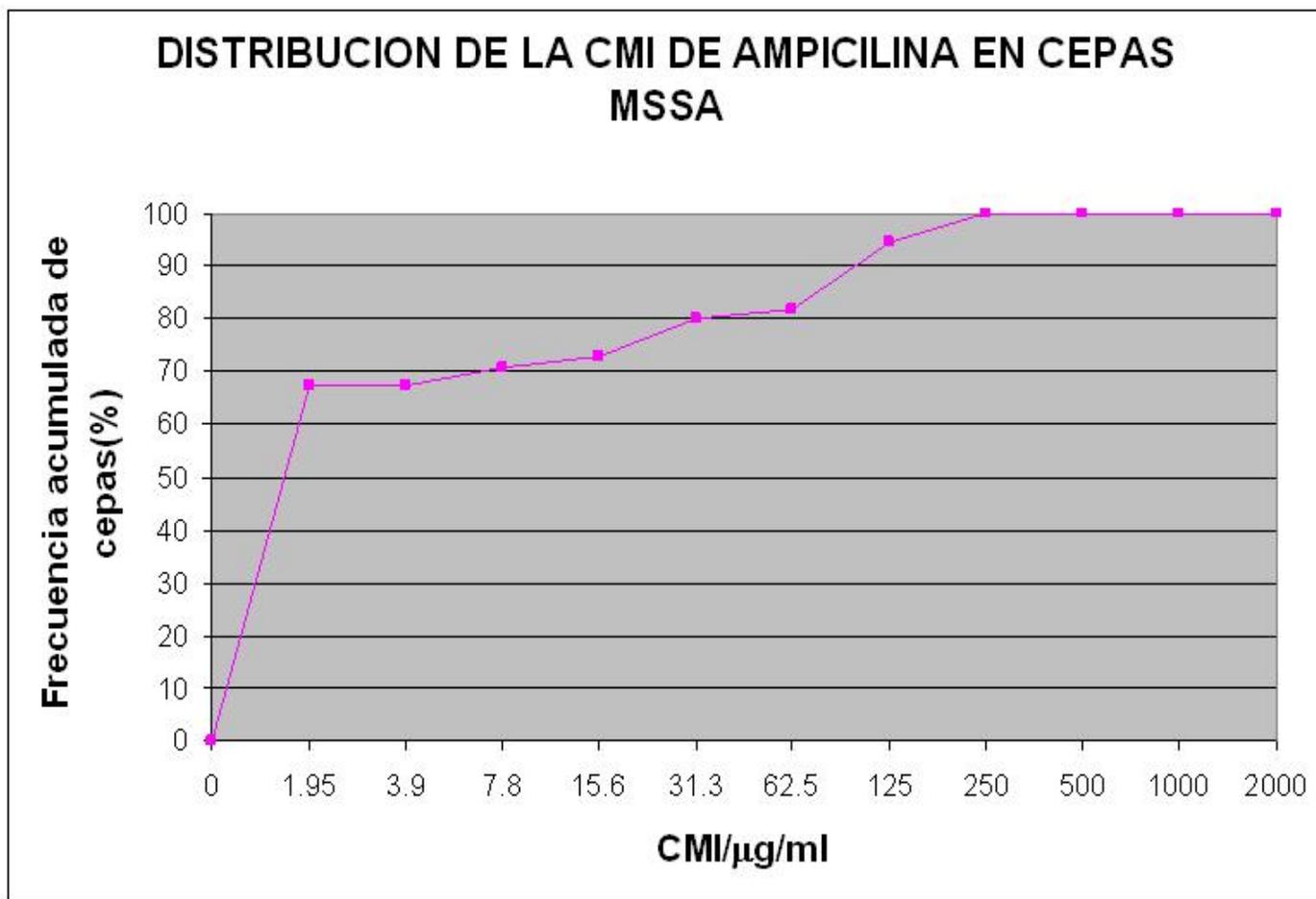
Gráfica 14. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Penicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI50 = 1.54 µg/ml y CMI90 = 205.55 µg/ml.



Gráfica 15. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefuroxima en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI50 = 1.12 µg/ml y CMI90 = 71.4 µg/ml.

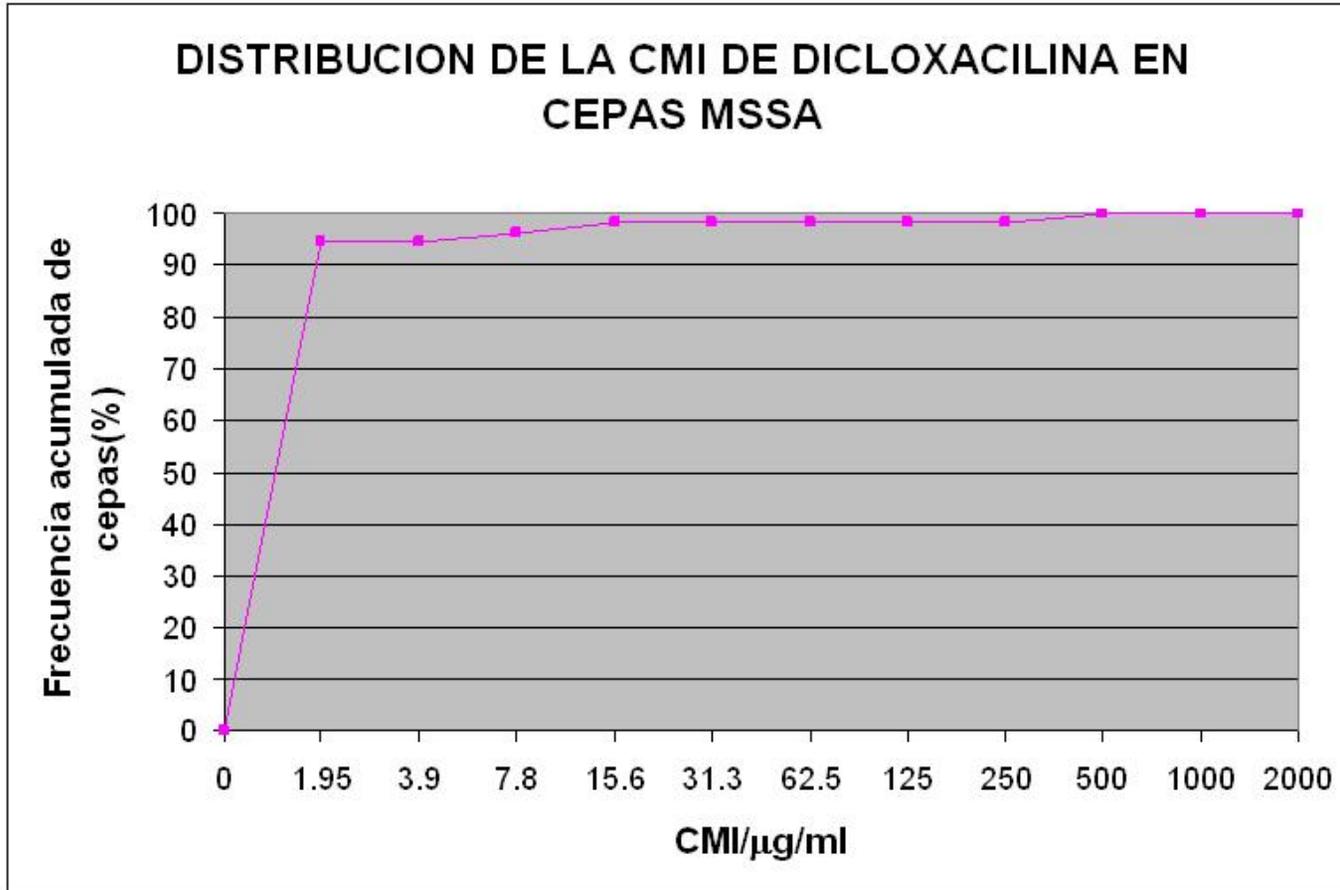


Gráfica 16. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ceftriaxona en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 1.4 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 115.9 µg/ml.

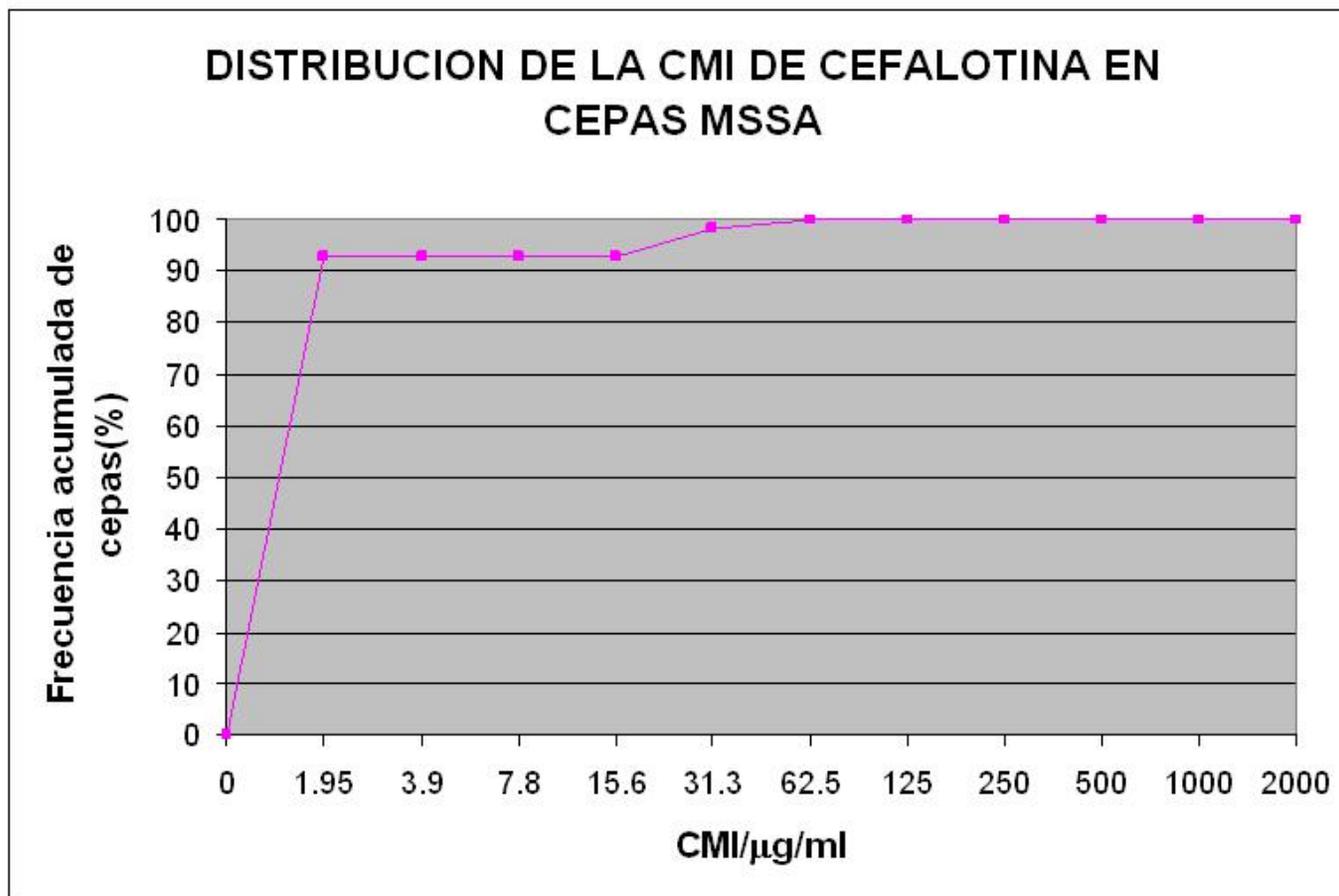


Gráfica 17. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ampicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).

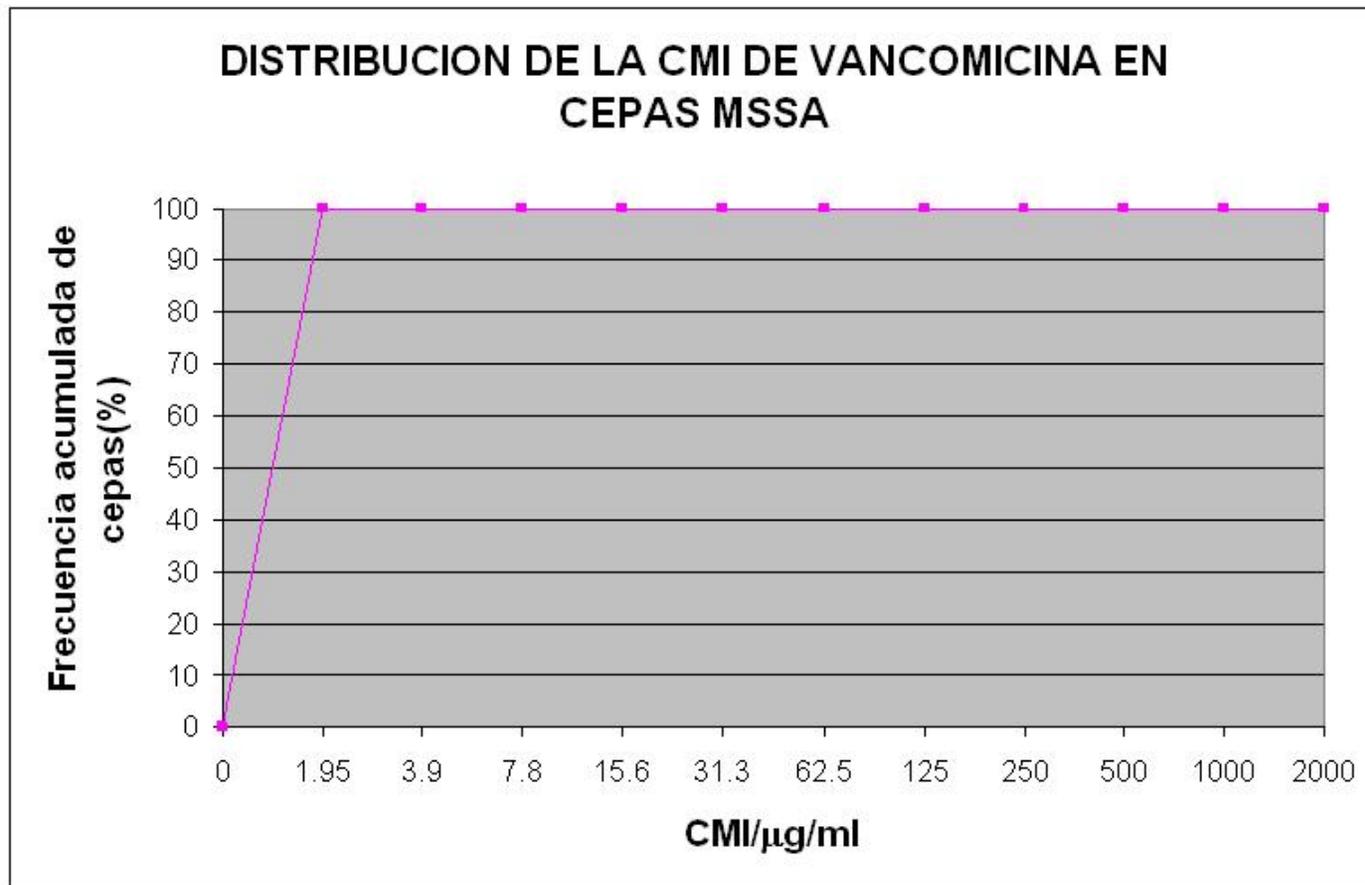
La CMI<sub>50</sub> = 1.54 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 98.1 µg/ml.



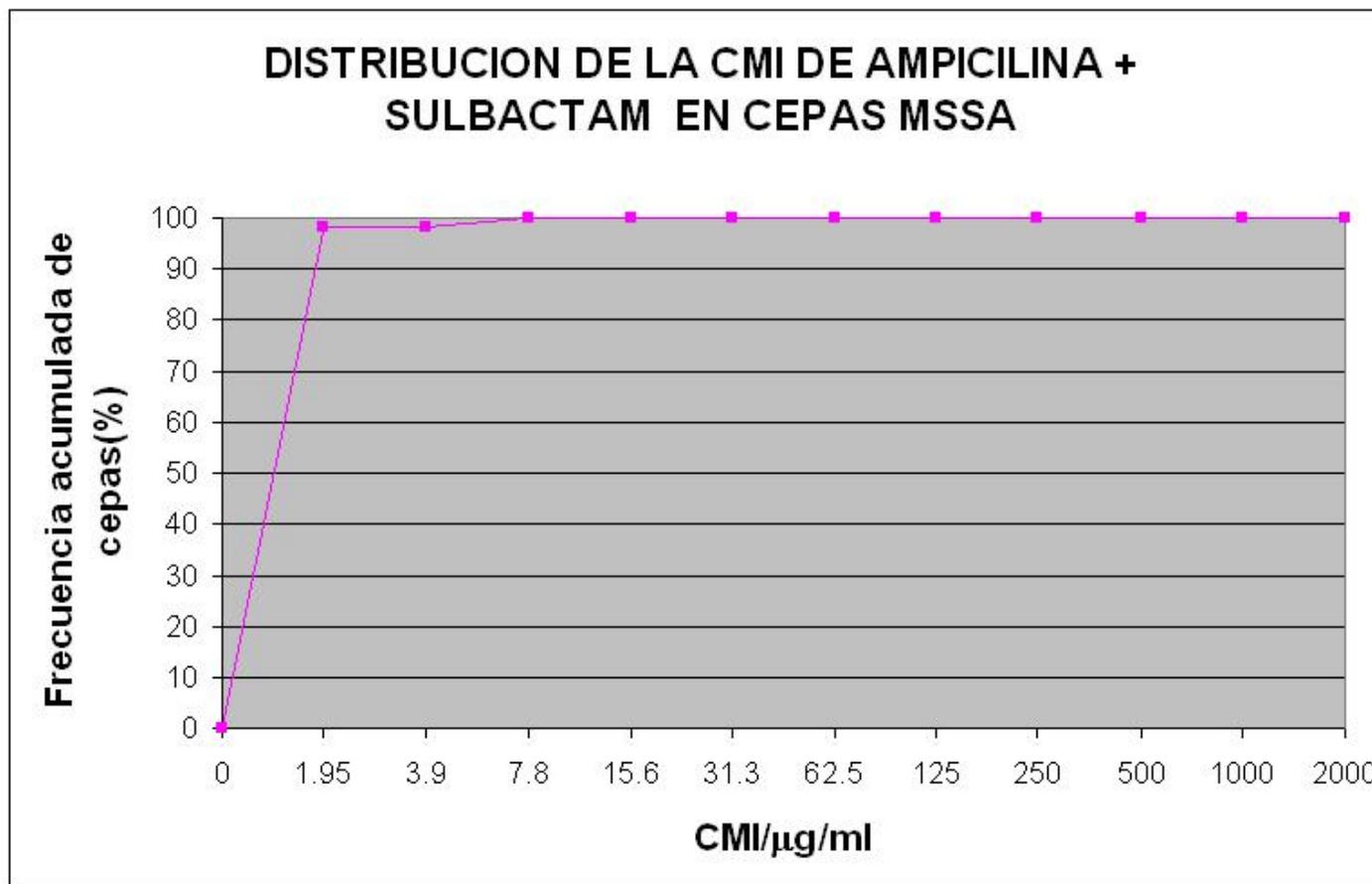
Gráfica 18. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Dicloxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.93 µg/ml.



Gráfica 19. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Cefalotina en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 1.12 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.95 µg/ml.

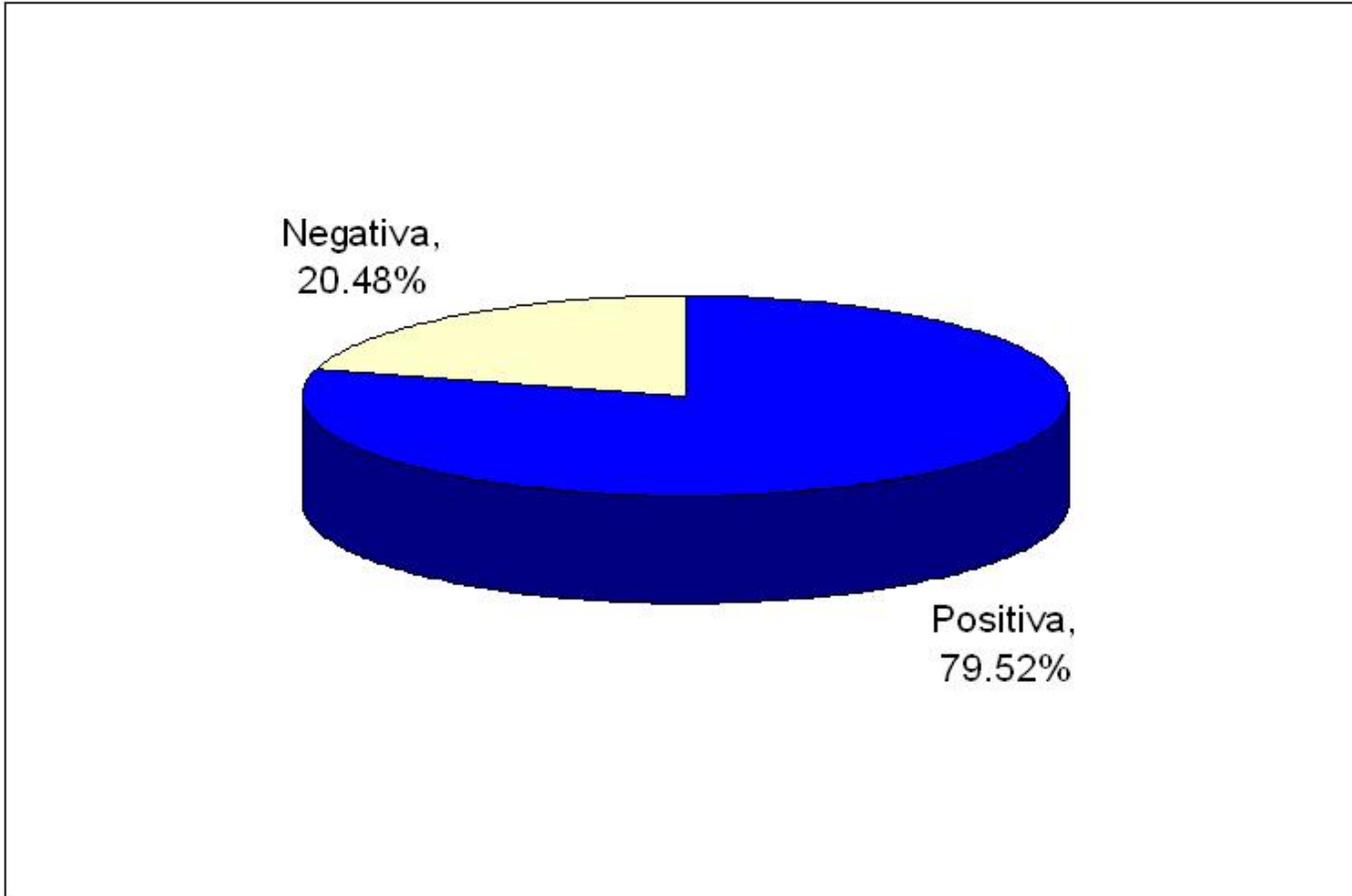


Gráfica 20. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Vancomicina en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).  
La CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.68 µg/ml.



Gráfica 21. Distribución de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ampicilina más Sulbactam en cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a meticilina (MSSA).

La CMI<sub>50</sub> = 1.09 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.82 µg/ml.



Grafica 22. Producción de  $\beta$ -lactamasas en cepas de *S. aureus*.

## DISCUSION

### **Bacterias aisladas**

Nosotros describimos que a partir de los 135 individuos muestreados se aislaron 294 cepas bacterianas diferentes, dentro de las cuales 83 (31.44%) fueron *Staphylococcus aureus* (gráfica 3). Nuestro porcentaje es similar al estudio realizado en población abierta, en donde se reportó que la prevalencia de *S. aureus* en portadores nasales fue del 37%, con un rango de 19 a 55% (Kluytmans, *et al.*, 1997). En otros estudios se han detectado distintos porcentajes, por ejemplo en un grupo de trabajadores de un servicio de cirugía, se encontró que el porcentaje de portadores nasales de *S. aureus* fue del 27% (Herrera, *et al.*, 1984), de 36.8% en estudiantes de medicina (Cifuentes, *et al.*, 1998), de 48.6% en población general (Cifuentes, *et al.*, 1998), de 40.4% en estudiantes universitarios del área de la salud (Silva, *et al.*, 1999), de 28.8% en personal de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (Mendoza, *et al.*, 2000) y del 35.6% en manipuladores de alimentos (Soto, *et al.*, 1996). En otro estudio realizado por Martínez-Castelao (2004) en 303 pacientes sometidos a hemodiálisis en la unidad de Agudos y en 71 pacientes en la unidad de Crónicos, se encontró que la tasa de colonización nasal de *S. aureus* fue del 32%.

Por otro lado describimos que se aislaron 181 cepas de *Staphylococcus epidermidis* de las mucosas nasales (68.56%, gráfica 3). Se ha reportado que *S. epidermidis* es un importante patógeno, que puede ocasionar endocarditis al colonizar las válvulas protésicas y en menor porcentaje las válvulas cardíacas naturales, infecciones en el líquido de la espina-cerebro, peritonitis en pacientes ambulatorios sujetos a diálisis e infecciones en el tracto urinario (Kleeman, *et al.*, 1993; Kremery, *et al.*, 1996; Sung, *et al.*, 1999).

En este trabajo describimos que a partir de los individuos analizados, se aislaron bacterias Gramnegativas como: 20 cepas de *E. coli* (66.66%), 2 de *Proteus* spp. (6.67%) y 8 de *Klebsiella* spp. (26.67%) (gráfica 4). En un estudio realizado por Polanco (1996) en 100 manipuladores de alimentos con actividad de cocineros, se encontró que el 26% de los individuos presentó *E. coli* y el 11% *Proteus* spp. en las fosas nasales, también se encontró *Klebsiella* spp.(3%) en la cavidad faríngea. Por otra parte en el estudio que realizó Ramón (2004) a 40 pacientes clínicamente sanos que acudieron al Laboratorio Clínico de la CUSI- Iztacala , aisló de la cavidad faríngea a *E. coli* (2.5%) y *Klebsiella* spp. (2.5%). La presencia de bacterias Gramnegativas en las fosas nasales de los individuos, puede deberse a la elevada contaminación ambiental en el área metropolitana por materia de origen fecal.

### **Resistencia de las cepas de *S. aureus* a la meticilina (MRSA)**

En este trabajo reportamos que el 33.73% de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas (83 cepas) fue resistente a la Meticilina y el 66.27% fue susceptible (gráfica 5). Se ha reportado que las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) frecuentemente son resistentes a otros  $\beta$ -lactámicos (penicilinas y algunas cefalosporinas) (Torroba, *et al.*, 2000). La incidencia de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina se ha incrementado a lo largo de las últimas décadas, un estudio multicéntrico en España que realizaron Cercenado y cols. (1997) encontraron que la resistencia a la meticilina era del 1.5% en 1987, del 11.2% en 1991 y del 17.9% en 1996. Posteriormente Picazo y cols. (2002) realizaron un estudio en cepas VISA (vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*) hallando que el 24% fueron resistentes a la meticilina, podemos observar que cada vez son mas frecuentes encontrarlas. En este estudio encontramos que de las 83 cepas de *Staphylococcus aureus* el 66.27% fue susceptible a la meticilina (gráfica 5). Nuestro porcentaje corrobora con el propuesto por Lambert (2004) en un estudio realizado durante 10 años (1989-2000) en la Universidad de Iowa, en donde detectó que de las 256 cepas de *S. aureus* aisladas, 169 fueron MSSA y 87 MRSA.

### **Resistencia a Penicilina**

Nosotros encontramos que el 100% de las cepas MRSA ( $CMI_{50} = 98.1 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 892.7 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 6) y MSSA ( $CMI_{50} = 1.54 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 205.55 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 14) fueron resistentes a Penicilina, esto puede deberse al hecho de que este antibiótico es utilizado con relativa frecuencia por ser considerado de 1ª elección por los médicos, además de la propia automedicación que realizan los pacientes. En la actualidad, y desde los años 1980, más del 90% de las cepas de *S. aureus* aisladas en humanos son resistentes a este antibiótico (Neu, 1992). En un estudio que realizó Palacio y cols. (1998) en 69 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de infecciones comunitarias e infecciones hospitalarias, obtuvieron que el 94% fue resistente a este antibiótico, así mismo Mendoza y cols.(2001) en el estudio que realizaron en 56 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas tanto de pacientes como del personal medico del Hospital de Regional Honorio Delgado de Arequipa, encontraron que el 100% de las cepas fue resistentes a la Penicilina.

### **Resistencia a Ampicilina**

Para el caso de la resistencia a Ampicilina hallamos que e 100% de las cepas MRSA ( $CMI_{50} = 47.05 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 120.35 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 7) y el

46.87% de las cepas MSSA ( $\text{CMI}_{50} = 1.54 \mu\text{g/ml}$  y  $\text{CMI}_{90} = 98.1 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 17) fueron resistentes. En el estudio que realizó Jiménez (1996) a 1465 cepas bacterianas aisladas de pacientes que acudieron a la CUSI-Iztacala encontró que el 78% de las cepas fue resistente a este antibiótico, así mismo Palacio y cols. (1998) en su estudio a 69 cepas de *S. aureus* encontraron que el 94% de las cepas fueron resistentes. Por otro lado Mendoza y cols. (2001) en su estudio que realizaron en el Hospital de Regional Honorio Delgado de Arequipa a 56 cepas de *Staphylococcus aureus* hallaron que el 100% de las cepas fue resistente a la Ampicilina. En otro estudio que realizó Monroy y cols. (2003) a 73 cepas clínicas de *S. aureus* aisladas de pacientes del área de Tlalnepantla reportaron que la mayoría de sus cepas fue resistente a este antibiótico, debido a que necesitaron de altas concentraciones para inhibir al 50% y al 90% de las cepas.

### **Resistencia a Cefuroxima**

Para la Cefuroxima (cefalosporina de 2<sup>a</sup> generación) encontramos que el 53.85% de las cepas MRSA ( $\text{CMI}_{50} = 1.26 \mu\text{g/ml}$  y  $\text{CMI}_{90} = 142.9 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 9) y el 53.01% de las cepas MSSA ( $\text{CMI}_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $\text{CMI}_{90} = 71.4 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 15) fueron resistentes. Nuestros datos discrepan con los encontrados por Simonet y cols. (1990) en su estudio realizado en 210 cepas

de *H. influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Branhamella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* y *Enterobacteriaceae* aisladas de infantes con otitis media. Estos autores encontraron que se necesitaron de muy bajas concentraciones para inhibir al 90% ( $MIC_{90}=1\mu\text{g/ml}$ ) de las cepas. En otro estudio que realizo Urassa y cols (1999). a 260 pacientes que acudieron al centro Medico de Tanzania detectaron que el 2.7% de las cepas de *S. aureus* fue resistente a este antibiótico.

### **Resistencia a Ceftriaxona**

En lo que respecta a la Ceftriaxona (cefalosporina de 3<sup>a</sup> generación), nosotros reportamos que el 54.87% de las cepas MRSA ( $CMI_{50}=1.54\ \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90}=98.1\ \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 8) y el 47.79% de las cepas MSSA ( $CMI_{50}=1.4\ \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90}=115.9\ \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 16) fueron resistentes a este antibiótico. Nuestros datos discrepan de los encontrados por Obi y cols. (1996) en su estudio realizado en el Hospital de la Universidad de Lagos, Nigeria a 98 cepas de *S. aureus*. En este estudio estos autores reportaron que el 4% de las cepas fue resistente a Ceftriaxona. Así mismo Calderon-Jaimes y cols. (2002) en un estudio realizado en el Instituto Nacional de Pediatría y del Hospital Infantil de México Federico Gómez hallaron que el 95% de las cepas MSSA fueron sensibles a este antibiótico y el 100% de las cepas MRSA fue

resistente. Por otra parte Monroy y cols. (2003) en un estudio realizado a 73 cepas clínicas de *S. aureus* aisladas de pacientes del área de Tlalnepantla reportaron que necesitaron de muy bajas concentraciones para inhibir al 50% ( $MIC_{50}=11.10\mu\text{g/ml}$ ) y al 90%( $MIC_{90}=38.50\mu\text{g/ml}$ ) de las cepas.

### **Resistencia a Dicloxacilina**

El 100% de nuestras cepas MRSA ( $CMI_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 3.49 \mu\text{g/ml}$ )(gráfica 10) y MSSA ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.93 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 18) fueron susceptibles a Dicloxacilina; se han encontrado trabajos en los que este antibiótico no tiene la misma actividad, como es el caso de Jiménez (1996) que obtuvo un 60.4% de resistencia a este antibiótico en las cepas de *Staphylococcus aureus*(44.4%), también Crespo(1999) en su estudio a 150 cepas clínicas de *S. aureus* aisladas de pacientes infectados del área de Tlalnepantla, Estado de México observo que el 36% fue resistente a Dicloxacilina.

### **Resistencia a Cefalotina**

Nosotros detectamos que el 100% de las cepas MRSA ( $CMI_{50} = 0.98 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.95 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 11) y MSSA ( $CMI_{50} = 1.12 \mu\text{g/ml}$  y  $CMI_{90} = 1.95 \mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 19) fueron susceptibles a Cefalotina. Diversos autores

han reportado que existe un ligero porcentaje de resistencia de cepas de *S. aureus* a este antibiótico como es el caso de Jiménez (1996), en su estudio detecto el 10% de resistencia en 651 cepas de *S. aureus*, Monroy (1997) en su estudio realizado en 150 cepas clínicas de *S. aureus* aisladas de diferentes ubicaciones morfológicas de pacientes infectados, reporto un 7% de resistencia a Cefalotina, Palacio y cols. (1998) detectaron el 28% de resistencia en 69 cepas de *S. aureus* aisladas tanto de infecciones comunitarias como hospitalarias.

### **Resistencia a Vancomicina**

Para el caso de la Vancomicina encontramos que el 100% de las cepas MRSA (CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.93 µg/ml) (gráfica 12) y MSSA (CMI<sub>50</sub> = 0.98 µg/ml y CMI<sub>90</sub> = 1.68 µg/ml) (gráfica 20) fueron susceptibles. Estos resultados reflejan que este antibiótico tiene una gran actividad contra las cepas de *S. aureus*, corroborando lo propuesto por Ikemoto y cols. (1998), en su estudio realizado a 557 cepas aisladas del tracto respiratorio. En este trabajo estos autores describieron que para inhibir el 80% de las cepas se necesitan de muy bajas concentraciones de este antibiótico (MIC<sub>80</sub> = 1 µg/ml). En otro estudio realizado por Quentin y cols. (2001), en donde aislaron 747 cepas de *S. aureus* de pacientes hospitalizados en 30 clínicas privadas de Aquitaine,

encontraron que el 100% de las cepas fueron susceptibles a Vancomicina. Sin embargo Hiramatsu y cols. (1997) en Japón aislaron del exudado de una herida infectada de un niño sometido a cirugía cardiaca la primera cepa con sensibilidad intermedia a la Vancomicina (CMI= 8  $\mu\text{g/l}$ ), después se detectaron 10 casos clínicos más en este país, 8 casos en Estados Unidos, de 20 a 27 en Francia, Corea y China todas las cepas fueron procedentes de enfermos sometidos a tratamientos prolongados con Vancomicina y otros antibióticos. Después Sievert y cols. (2002) publicaron el primer caso de infección humana causada por una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la Vancomicina (CMI =32  $\mu\text{g/l}$ ) aislada de una muestra biológica obtenida del orificio de salida de un catéter de diálisis, en un enfermo de Michigan (Estados Unidos), de 40 años de edad, diabético, con insuficiencia renal crónica y enfermedad vascular periférica. Esta cepa mantuvo la sensibilidad a linezolid, tetraciclinas, cloranfenicol, quinupristina-dalfopristina y cotrimoxazol.

### **Resistencia a Ampicilina más Sulbactam**

Para la Ampicilina más Sulbactam reportamos que el 100% de las cepas MRSA (CMI<sub>50</sub> =0.98  $\mu\text{g/ml}$  y CMI<sub>90</sub> = 1.90  $\mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 13) y MSSA (CMI<sub>50</sub>=1.09  $\mu\text{g/ml}$  y CMI<sub>90</sub>= 1.82  $\mu\text{g/ml}$ ) (gráfica 21) fueron susceptibles a

este antibiotico. Varios autores como Siderenko y cols. (1998) en su estudio a 898 cepas de *Staphylococcus* aisladas de 9 centros médicos de Moscow y St. Petersburg y García (2001) a 73 cepas de *S. aureus* aisladas de diferentes ubicaciones morfológicas de pacientes que acudieron a la CUSI-Iztacala hallaron que el 100% de sus cepas fueron susceptibles ante este antibiótico. Sin embargo Palacio y cols. (1998) en su estudio a 69 cepas de *Staphylococcus aureus* reportaron que el 27% de las cepas fueron resistentes. Estos resultados muestran que el uso de inhibidores de  $\beta$ -lactamasas ya sea el Sulbactam o Ácido clavulánico en combinación con un antibiótico  $\beta$ -lactámico pueden ser de gran utilidad para el tratamiento de infecciones ocasionadas por microorganismos que producen  $\beta$ -lactamasas.

### **Producción de $\beta$ -lactamasas**

En este estudio se obtuvo que el 79.52% de las cepas fue productora de  $\beta$ -lactamasas (gráfica 22), estos datos corroboran con el estudio que realizó Hammonnd y cols. (1995) a 2286 cepas bacterianas aisladas de las fosas nasales de niños de seis años en donde la gran mayoría produjo  $\beta$ -lactamasas, al igual que Siderenko y cols. (1998) en su estudio a 898 cepas de *Staphylococcus* aisladas de 9 centros médicos de Moscow y St. Petersburg reporto que el 81% de las cepas produjo  $\beta$ -lactamasas. También García

(2001) encontró que el 85% de sus 73 cepas de *S. aureus* produjeron estas enzimas.

Por otro lado es importante mencionar que el 20.48% de nuestras cepas de *S. aureus* que no produjo  $\beta$ -lactamasas (gráfica 22) y que fueron resistentes a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos probados, puede deberse probablemente a una alteración (mutación) de las PBPs.

## CONCLUSIONES

- Se analizaron un total de 135 pacientes, de los cuales el 65.19% perteneció al sexo femenino y el 34.81% al sexo masculino.
- A partir de las fosas nasales de los pacientes analizados se aislaron un total de 294 cepas bacterianas, dentro de las cuales 83 fueron *Staphylococcus aureus* (31.44%) y 181 *Staphylococcus epidermidis* (68.56%).
- También se aislaron bacterias Gram negativas como: *Escherichia coli* (66.66%), *Proteus* spp. (6.67%) y *Klebsiella* spp. (26.67%).
- El 33.73% de las cepas de *Staphylococcus aureus* fue resistente a Meticilina y el 66.27% fue susceptible.
- El 100% de las cepas MRSA y MSSA fueron resistentes a Penicilina.
- El 100% de las cepas MRSA y el 46.87% de las cepas MSSA fueron resistente a Ampicilina.

- El 54.87% de las cepas MRSA y el 47.79% de las cepas MSSA fueron resistente a Ceftriaxona.
- El 53.85% de las cepas MRSA y el 53.01% de las cepas MSSA fueron resistente a Cefuroxima.
- El 100% de las cepas tanto MRSA como MSSA fueron susceptibles a Dicloxacilina, Cefalotina, Vancomicina y Ampicilina más Sulbactam.
- El 79.52% de las cepas de *S. aureus* fue productora de  $\beta$ -lactamasas y el 20.48% no produjo  $\beta$ -lactamasas.
- La presencia de *S. aureus* resistente a la meticilina en portadores asintomáticos, representa un riesgo de salud, por lo que se sugiere el tratamiento con antimicrobianos en los portadores nasales.

## REFERENCIAS

1. Bailey. 1991. Diagnostico microbiológico. 7. Panamericana. E.U.A. 93-109 pp.
2. Calderon-Jaimes, E., Espinosa de los Monteros, L., Ávila-Beltrán. 2002. Epidemiology of drug resistnce: The case of *Staphylococcus aureus* and coagulase- negative stahylo- cocci infections. Salud Pública de México. **44**: 108-112.
3. Cavalcanti, S.M., Franca, E.R., Cabral, C., Vilela, M.A., Montenegro, F., Menezes, D., Medeiros, A.C.2005. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a University Hospital. Braz J Infect Dis. **9**(1):56-63.
4. Cercenado, E., Sanchez-Carrillo, C., Alacala, L., Bouza, E. 1997. Situación actual de la resistencia de *Stahylococcus* en España. Cuarto estudio nacional (1996). Grupo de trabajo para el estudio del estafilococo. Rev. Clin. Esp.; **197**(Suppl. 2): 12-18.
5. Chang, S.C., Hsieh, W.C., Luh, K.T. 1995. Influence of beta-lactamase inhibitors on the activity of oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Diagn Micro-biol Infect Dis. **21**: 81-84.
6. Cifuentes, M., Prado, V., Ojeda, A. 1998. Prevalencia de portación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en estudiantes de medicina y población general. Rev. Chil. Infet. **15**: 161-9.

7. Creech, C.B., Kernodle, D.S., Alsentzer, A., Wilson, C., Edwards, K.M. 2005. Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Pediatr Infect Dis J.* **24**(7):617-21.
8. Crespo, V. 1999. Susceptibilidad de los *Staphylococcus aureus* a metales pesados y a antibióticos. Tesis de Licenciatura, ENEP-Iztacala. UNAM. México. 68pp.
9. Cuevas, O., Cercenado, E., Vindel, A., Guinea, J., Sánchez-Conde, M., Sánchez-Somolinos, M., Bouza, E. and the Spanish Group for the Study of *Staphylococcus*. 2004. Evolution of the Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: Five Nationwide Prevalence Studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**(11): 4240–4245.
10. Famiglietti, A, Quinteros, M., Predari, S. C., Corso, A., Marín, M., Nicola, F. Radice, M., Lopardo, H. Casellas, J. M., Bantar, C., Couto, E., Galas, M., Goldberg, M., Gutkind, G., Kovensky Pupko J., Pasterán, F., Soloaga, R. 2004. Actualización del Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en cocos gram-positivos. Subcomisión de Antimicrobianos SADEBAC - AAM, Bulnes 44 PB B, 1176, Buenos Aires, Argentina.
11. Freeman, B.A, 1984 .Tratado de Microbiología de Burrows.21. Interamericana. México. 429-446 pp.
12. García, J.A., García, E. 1997. Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: Eficacia in vivo y Eficacia in vitro. Madrid-Barcelona: ed Doyma, S.A. 39-50.

13. García, M. 2001. Respuesta de 73 cepas de *Staphylococcus aureus* a 6 antibióticos  $\beta$ -láctamicos y a un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, sulbactam/ampicilina. Tesis de Licenciatura, ENEP-Iztacala. UNAM. México. 46pp.
14. Gómez, R., Gil, J., Castillo, J., Rubio, M. C. 1992. Impacto de los inhibidores de beta-lactamasas en la susceptibilidad antibiótica de los patógenos más frecuentes. En: Betalactamasas: su importancia para el clínico. Madrid: Smith Kline&French S.A.E. 109-127.
15. Hammond, M.L., Norris, M.S. 1995. Antibiotic resistance among respiratory pathogens in preschool children. Med. J. Aust. **163**: 239-242.
16. Hernández, V., Trinidad, I., Peraza, T., Gilda, T., González, M. 2003. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina: detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad. Rev Cubana Med Trop. **55**:153-161.
17. Herrera, V., Henríquez, M., Vidal, N. 1984. Portadores de *Staphylococcus aureus* en un servicio de cirugía. Rev. Méd. Chile. **112**: 242-6.
18. Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C. 1997. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains with reduced vancomycin susceptibility. J. Antimicrob Chemother. **40**: 135-136.
19. Hurtado, M. P., de la Parte, M. A., Brito, A. 2002. *Staphylococcus aureus*: Revision of the mechanisms of pathogenicity and physiopathology of staphylococcal infections. Rev. Soc. Ven. Microbiol. **22**:1-9.

20. Iáñez, E. 1998. Resistencia bacteriana a los antibióticos. 1-9pp.  
[http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/21\\_micro.htm](http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/21_micro.htm)
21. Ikemoto, H., Watanabe, K., Mori, T., Igari, J., Oguri, T., Shimizu, Y., Terai, T., Inoue, H., Nakadate, T., Ito, C., Yoshida, T., ohno, I., Tanno, Y., Arakawa, M., Igarashi, K., Okada, M., Ozaki, K., Auki, N., Kitamura, N., Sekine, O., Susuki, Y., Nakata, K., Nakatani, T., Inagawa, H., Kusano, N. 1998. Susceptibilities of bacteria isolated patients with lower infectious diseases to antibiotics (1996). *J. Antibiot.* **57**(7):437-74.
22. Jiménez, E. 1996. Patrones de resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de pacientes de la clínica Universitaria Iztacala durante 7 años. Tesis de Licenciatura, ENEP-Iztacala. UNAM. México. 73pp.
23. Kaplan, S.L., Hulten, K.G., Gonzalez, B.E., Hammerman, W.A., Lamberth, L., Versalovic, J., Mason, E.O. 2005. Three-year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis.* **40**(12):1785-91.
24. Kleeman, K., Bannerman, T.L., Kloos, W.E. 1993. Species distribution of coagulase-negative staphylococcal isolates at a community hospital and implications for staphylococcal identification procedures. *J. Clin. Microbiol.* **31**:13-18.
25. Kluytmans, J., Belkum, A., Verbrugh, H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Rev. Clin. Microbiol.* **10**: 505-20.

26. Koneman, A. 1997. Diagnóstico microbiológico.3. Panamericana. México. 414-421pp.
27. Kremery, V., Trupl, J., Drgona, L., Lacka, J., Kukuckova, E., Oravcova, E. 1996. Nosocomial bacteriemia due to vancocyn-resistant *Staphylococcus epidermidis* in four patients with cancer, neutropenia, and previous treatment with vancocyn. *Eur. J.Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **15**:259-261.
28. Lambert, R.J. W. 2004. Comparative analysis of antibiotic and antimicrobial biocide susceptibility data in clinical isolates of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* between 1989 and 2000. The Society for Applied Microbiology. *Journal of Applied Microbiology*.
29. López, S. G., Alonso, T. J., Pineda, O.J., Paniagua, C.G. 2001. Contaminación por *Staphylococcus aureus* en la unidad de hemodiálisis. *Desarrollo Científico de Enfermedades.* **9**:163-167.
30. Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. 1997. *Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas.* New York: Churchill Livingstone
31. Martínez-Castelao, A. 2004. Epidemiología clínica y molecular de la colonización por *Staphylococcus aureus* en pacientes en hemodiálisis. Vigilancia de la erradicación y aparición de resistencias a la Mupirocina. Sociedad Española de Diálisis y Trasplante.
32. Mendoza, T., Ballón, E., De Los Ríos, A., Velásquez, T. 2001. *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente (MRSA): Colonización y

- susceptibilidad en pacientes y personal de salud de un hospital de referencia. Laboratorio de Análisis Clínicos. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Vol. 40. No. 3.
33. Mendoza, C.A., Velásquez, T.R., Mercado, D.L., Ballon, E.J., Maguiña, V.C. 2003. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "BORDERLINE" y resistentes a la meticilina. Rev Med Hered. **14**(4):181-185.
34. Mirvik, Q., Pearsall, N., Welser, R. 1977. Bacteriología y Micología Médicas. Interamericana. México. pp 133-183.
35. Monroy, P.E. 1997. Resistencia a antibióticos y metales pesados en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. Tesis de Maestría. FES- Cuautitlán, UNAM.
36. Monroy, P.E., Paniagua, C.G., Vaca, P.S., González, E.S. 2003. Comparación de la efectividad de antibióticos  $\beta$ -láctamicos en cepas de *Staphylococcus aureus*. Revista Hospital General Dr. M Gea González. **6**: 7-12.
37. Navascués, A., García-Irure, J. J., Guillén, F. 2003. State of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the Hospital of Navarre (2000-2002). Servicio de Microbiología. Hospital de Navarra. 1-5pp.
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Tenth informational

- supplement Wayne (PA). *National Committee for Clinical Laboratory Standards*.2000: M100-S10.
39. Neu, H.C. 1992. The crisis in antibiotic resistance. *Science*. **257**: 1064-1073.
40. Nodarse, R. 2001. Estafilococos Multirresistentes: Uso del disco de Oxacillín como marcador de resistencia a antibióticos. *Rev Cubana Med Milit*. **30**(1):7-10.
41. Novick, R. P. 1993. *Staphylococcus*. In : A. L. Sonenshein, J.A. Hoch & R. Losick (eds), *Bacillus subtilis* y other Gram-Positive bacteria. Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics, American Society for Microbiology, USA. 17-33 pp.
42. Obi, C.L., Iyiegbuniwe, A.E., Olukoya, D.K., Babalola, C., Igumbor, E.O., Okonta, A.A.1996. Antibigrams and plasmids of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from different clinical sources. *Cent, Afr. J. Med*. **42**:258-261.
43. O'Callaghan, C.H., Morris, A., Kirky, S.M., Shingler, S.H. 1972. Novel method for detection of beta-lactamase by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob. Agents. Chemother*. **1** : 283-288.
44. Palacio, R., Camou, T., Pérez-Giffoni, G., Dell'Acqua, L., Varela, G., Hortal, M., Algorta, G., Diez, D., Pedreira, W. 1998. Resistencia a los antibióticos de patógenos bacterianos aislados de infecciones sistémicas: estudio cooperativo. *Rev Med Uruguay*. **14**: 120-133.

45. Panlilio, A., Culver, D.H., Gaynes, R.P. 1992. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in US hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 13: 582-6.
46. Picazo, J. J., Betriu, C., Rodríguez-Avial, I., Azahares, E., Ali- Sanchez, B y Grupo VIRA. 2002. Vigilancia de resistencia a los antimicrobianos: Estudio Vira. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **20**:503-510.
47. Polanco, M. 1996. Incidencia de microorganismos patógenos en manipuladores de alimentos del Distrito Federal y Área Metropolitana. Tesis de Licenciatura. ENEP-Iztacala. UNAM. México. 57pp
48. Qentin, C., Jullin, J., Grobost, F., Fischer, I., Lagrange, I., Dutilh, B., Noury, P., Andre, C., Brochet, J.P., Larribet, G. 2001. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in extra-hospital practice: a six-month period study in Aquitaine. *Pathologie et Biologie.* **49**(1):33-40.
49. Ramón, M. 2001. Frecuencia de infecciones parasitarias y microbianas en un grupo de pacientes clínicamente sanos de la comunidad de los Reyes Iztacala. Tesis de Licenciatura, ENEP-Iztacala. UNAM. México. 80pp.
50. Richmond, M.H. 1965. Will type variants of exopenicillinase from *Staphylococcus aureus*. *Biochem.J.* **94**:584-593.
51. Rosendahl, V.T. 1993. Naturally occurring constitutive  $\beta$ -lactamase of novel serotype in *Staphylococcus aureus*. *J. Gen. Microbiol.* **77**:229-231.

52. Sideronko, S.V., Rezvan, S.P., Grudinina, S.A., Krotova, L.A., Sterkhova, G.V. 1998. Multicenter study of *Staphylococcus* susceptibility to antibiotics in Moscow and St. Petersburg. *Antibiot Khimioter.* **43**:15-25.
53. Sievert, D.M., Boulton M.S., Stolman G. 2002. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin United States. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR.* **51**: 565-567.
54. Silva, J., Urdanavia, R., González, M., Rivera, A. 1999. Portación de *Staphylococcus aureus* en estudiantes universitarios del área de la salud. *Rev. Chil. Cs Méd Biol.* **9**: 45-52.
55. Simonet, M., Hermann, J. L., Veron, M. 1990. Activity of cefuroxime against bacterial strains isolated from acute otitis media. *Pathol Biol.* **38**:355-357.
56. Soto, A., Saldías, M.E., Oviedo, P., Fernández, M. 1996. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos de una universidad de la Región Metropolitana. *Rev. Méd. Chile.* **124**: 1142-6.
57. Sung, L, *et al.* 1999. Bacteriemia due to persistent strains of coagulase-negative staphylococci in neonatal intensive-care unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **20**:349-351.
58. Sussmann, O. A., Mattos, L., Restrepo, A. 2001. Resistencia bacteriana. Unidad de Infectología, Hospital Universitario San Ignacio. 1-12pp.
59. Sykes, R.B. & M. Mathew. 1976. The  $\beta$ -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* **2** :115-157.

60. Torroba, L., Rivero, M., Otermin, I., Gil, A., Iruin, A., Maraví-Poma, E., García-Irure, J.J. 2000. Antimicrobial resistance and antibiotics policy: *MRSA, GISA and VRE*. Servicio de Microbiología. Hospital de Navarra. 1-10pp.
61. Urassa, W. K., Haule, E. A., Kagoma, C., Langeland, N. 1999. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains at Muhimbili Medical Centre, Tanzania. East Afr Med J. **76**:693-695.
62. Velásquez, J., Lizaraso, F., Wong, W. 2002. Vigilancia de la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la oxacilina-vancomicina y patrones de coresistencia. Rev. Soc. Peru. Med. Interna. **15**(4):184-189.
63. Zygmunt, D.J., Stratton, C.W., Kernodle, D.S. 1992. Characterization of four beta-lactamases produced by *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. **36**:440-445.