



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y
MICROBIOLÓGICAS DE BACTERIEMIAS POR
Staphylococcus aureus EN UN HOSPITAL
PEDIÁTRICO DE TERCER NIVEL

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

PEDIATRA

PRESENTA:

Dr. Luis Fernando Sifuentes Domínguez

DIRECTOR DE TESIS
Dr. José Ignacio Santos Preciado.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

MÉXICO, D. F.

Agosto

2008



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 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.

Nombre del proyecto de Investigación para obtener el título de Pediatra:

Características clínicas y microbiológicas de bacteriemias por *Staphylococcus aureus* un hospital pediátrico de tercer nivel

Tesista: Dr. Luis Fernando. Sifuentes Domínguez

Tutor:

Dr. José Ignacio Santos Preciado
Director General Hospital Infantil de
México Federico Gómez

Asesores:

Dra. Margarita Nava Frías.
Jefa departamento de Infectología
Hospital Infantil de México Federico
Gómez

Dra. Norma Velázquez Guadarrama.
Jefa departamento de bacteriología
intestinal Hospital Infantil de México
Federico Gómez

Sede: Hospital Infantil del México Federico Gómez y Universidad Nacional Autónoma de México.

Dedicatoria:

A mis padres por ayudarme llegar a donde estoy.

Agradecimientos:

A mis profesores por su dirección y enseñanza.

ÍNDICE

Resumen	6
Introducción	8
Marco Teórico	11
Justificación	14
Pregunta	14
Objetivo Principal	14
Objetivo específico	14
Pacientes y métodos	15
Resultados	19
Discusión	21
Tablas y figuras	23
Referencias	26

RESUMEN:

Staphylococcus aureus se ha mantenido entre las causas principales de bacteremia y se asocia a gran morbilidad y mortalidad en todos los grupos etarios. La incidencia de sepsis por cualquier patógeno ha aumentado en las últimas décadas y en estudios recientes hechos en población pediátrica *S. aureus* figura dentro de las principales causas de infecciones nosocomiales. Distintos factores de riesgo se cree favorecen el riesgo de sepsis en niños, especialmente prematuridad, uso de dispositivos intravasculares, diálisis, nutrición parenteral total, ventilación mecánica, estancia hospitalaria prolongada, tratamiento inmunosupresor y enfermedad crónica. La prevalencia de infecciones por bacterias resistentes ha aumentado en hospitales mexicanos en las últimas décadas. Sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la prevalencia de bacteriemias por *S. aureus* en la población pediátrica mexicana. El estudio SENTRY describió una prevalencia de 31.5% de SAMR en bacteriemias en Latino América, y algunos reportes nacionales estiman la prevalencia de SAMR del 7-30%.

Objetivo principal: Describir las manifestaciones clínicas, microbiológicas y respuesta al tratamiento en bacteriemias por *S. aureus*

Diseño del estudio: estudio descriptivo, observacional, transversal, ambispectivo, donde detectamos a todos los casos de bacteriemias por *S. aureus*, se realizó consulta de la base de datos del laboratorio de microbiología para identificar a todos los aislados clínicos de SAMR y SAMS del periodo comprendido entre abril de 2004 y marzo de 2007.

Resultados: Todos los casos de bacteriemia por SAMR comunitarios tenían una enfermedad de base, y no se encontró un solo caso de bacteriemia por SAMR comunitario en población sana. De los pacientes que se encontraban con ventilación asistida a la fecha de toma de cultivo, 70% correspondieron a SAMR, con una mediana en días de intubación de 4 días. Veinticuatro pacientes (57%) tenían un acceso vascular central cuando se documentó la bacteriemia ($p=0.4$), 50% correspondieron a SAMR con una mediana en días de estancia del catéter venoso central de 8 días. Existieron 21 casos (50%) de bacteriemia documentada en un servicio de terapia intensiva, de ellas 12 fueron causadas por SAMR (57%) ($p=0.05$). De los pacientes con bacteriemias nosocomiales por SAMR, 9 requirieron de internamiento en un servicio de cuidados intensivos.

Conclusión: El perfil de los pacientes con bacteriemia por SAMS contrastó con el de SAMR en términos de edad y estancia hospitalaria, sin embargo la mayoría de los casos de este grupo también tenían enfermedad subyacente, esto posiblemente secundario a la población que el hospital atiende.

Se documentó un foco infeccioso en 80% de todos los casos de bacteriemia por *S. aureus*. Dos de los casos comunitarios por SAMS fueron consecuencia de infecciones relacionadas a catéteres permanentes en pacientes ambulatorios, sin embargo se documentaron 3 neumonías adquiridas en la comunidad por SAMR, este hallazgo refleja el peligro de diseminación en la población general como ha sido descrito en estudios recientes en otras partes del mundo.

Se sugiere considerar el uso de vancomicina como tratamiento empírico en pacientes menores a 6 meses con enfermedad subyacente con internamiento prolongado quienes se encuentren internados en salas de cuidados intensivos.

INTRODUCCIÓN:

La bacteriemia se refiere a la presencia de bacterias en la sangre y conforma un síndrome clínico complejo y en constante transformación que ocasiona una importante y creciente morbimortalidad. Las últimas décadas han visto un cambio dramático en la epidemiología, etiología y características clínicas de las bacteriemias. La incidencia de bacteriemia en la población general se ha incrementado en un 8.7% anual, pasando de 83 a 240 episodios por cada 100,000 habitantes entre los años 1979-2000. ⁽¹⁾

Clasificación de bacteriemias según lugar de adquisición

Es recomendable clasificar a las bacteriemias de acuerdo al lugar de adquisición en comunitarias y bacteriemias de adquisición nosocomial. ⁽²⁾

Tabla 1. Principales características de las bacteriemias agrupadas según el lugar de origen

Adquisición de la bacteriemia	Incidencia	Etiología %				Microorganismos principales	Polimicrobiana %	Origen %	Mortalidad %
		Gram+	Gram-	Hongos	Anaerobios				
Comunitaria	6-10	31	68	0	1	<i>E. coli</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i>	5-6	Urinario (46-53) Respiratorio (12-27) Desconocido (9)	11-16
Nosocomial	6	65	25	9.5	0-2	ECN <i>S. aureus</i> Enterococos	13-53	Catéter vascular (26-52) Urinario (18-33) Desconocido (16)	27-37

Bacteriemia de adquisición en la comunidad:

La bacteriemia comunitaria es aquella que tiene su origen en la comunidad y es detectada dentro de las primeras 48hrs de hospitalización. Actualmente hasta 50% de las bacteriemias son de origen comunitario. ⁽²⁾ En ellas existe un predominio de bacterias gram negativas en 68% de los casos. La mortalidad de la bacteriemia comunitaria es de 11-16%. La gravedad de la situación clínica al diagnóstico es el factor pronóstico más importante. ^(2,3)

Bacteriemia nosocomial:

En esta categoría se incluyen a las bacteriemias que ocurren tras las primeras 48hrs de hospitalización. La incidencia de la bacteriemia nosocomial se estima en 6 episodios/1000

ingresos. ⁽⁴⁾ En esta categoría predominan las bacterias gram positivas en 65% de los casos. La mortalidad global es del 27-37%.^(2,4)

Clasificación de bacteriemias según su repercusión clínica

Falsa bacteriemia o contaminación:

Situación en que se detecta crecimiento en hemocultivos de una o más bacterias que no ocasionan bacteriemia verdadera. Generalmente se debe a contaminación durante la toma o procesamiento de la muestra.

Bacteriemia verdadera:

Presencia cierta de microorganismos en la sangre del paciente. Para su diagnóstico se precisan criterios microbiológicos y clínicos. Se considera bacteriemia verdadera cuando a) un microorganismo que no es causa habitual de contaminación de hemocultivos se aísla en al menos un hemocultivo de un paciente con un cuadro clínico compatible con bacteriemia, o b) un microorganismo que contamina habitualmente los hemocultivos se aísla en al menos 2 series de venopunciones distintas en un paciente con cuadro compatible.

Existen numerosos factores de riesgo para el desarrollo de bacteriemias. La hospitalización en unidades de cuidados intensivos se asocia a un incremento considerable en la incidencia de bacteriemias. El sistema de vigilancia de infecciones nosocomiales de Estados Unidos estima la incidencia de bacteriemias relacionadas a catéteres venosos (CV) de 2.9-9.7 episodios/1000 días de permanencia de CV. Los catéteres venosos centrales originan el 75% de estas bacteriemias, y constituyen el factor de riesgo más importante en la bacteriemia nosocomial. ⁽⁵⁾

Los procedimientos quirúrgicos también favorecen el desarrollo de bacteriemias y se estima la incidencia 5.4 episodios/1000 ingresos en servicios quirúrgicos. La herida quirúrgica es el segundo origen más frecuente de bacteriemias tras CVC. ⁽⁵⁾

Las características y antecedentes patológicos de ciertas poblaciones de pacientes también se consideran factores de riesgo para el desarrollo de bacteriemia. Los pacientes con enfermedad oncológica quienes presentan neutropenia postquimioterapia y fiebre presentan una incidencia de bacteriemia hasta 24%.⁽⁵⁾

Otros factores de riesgo descritos para el desarrollo de bacteriemias incluyen: paciente en diálisis ambulatoria, diabetes mellitus, receptores de transplante de órgano sólido y progenitores hematopoyéticos, infección por VIH, uso de drogas endovenosas y cirrosis hepática. ⁽⁵⁾

MARCO TEORICO

El termino estafilococo proviene de la palabra griega *staphyle* (racimo de uvas) y fue acuñado por el cirujano escocés Sir Alexander Ögtson en 1882, por la característica agrupación microscópica.⁽⁶⁾

Microscópicamente *Staphylococcus aureus* es un organismo Gram positivo, caracterizado por cocos individuales con un diámetro 0.5-1.7µm que generalmente se agrupan en racimos.

Macroscópicamente *S. aureus* se caracteriza por crecimiento rápido en cajas con agar sangre y otros medios no selectivos. Las colonias son lisas, opacas y convexas con un diámetro de 1-3mm a las 24hrs de incubación y con beta-hemólisis ⁽⁷⁾. Fig 1.

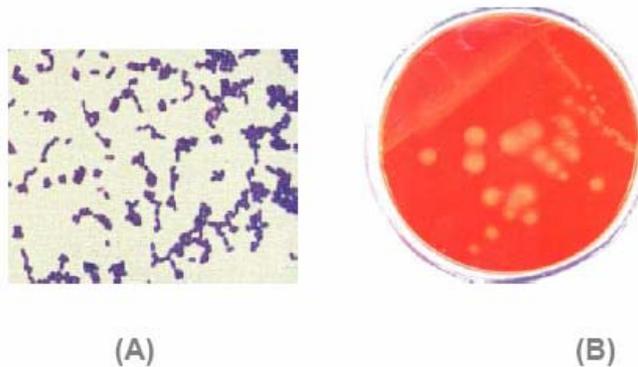


Figura 1.

A) Tinción de Gram de un coco Gram-positivo agrupado en racimos

B) Crecimiento en placa de agar sangre de colonias de *S. aureus*

Dentro de la familia Micrococcaceae el género *Staphylococcus* puede separarse del género no patógeno, *Micrococcus* por varias pruebas, incluyendo 1) producción aeróbica de ácido a partir de glucosa, 2) sensibilidad a lisostafina (200 µg), 3) crecimiento en caldo BHI con NaCl al 12% y 4) producción de ácido a partir de glicerol en presencia de eritromicina. La identificación final de *S. aureus* se lleva a cabo tras la positividad a las siguientes pruebas 1) producción de catalasa 2) producción de coagulasa 3) fermentación de manitol y 4) producción de deoxiribonucleasa⁽⁷⁾.

S. aureus es uno de los patógenos oportunistas humanos más importantes, responsable de una gran variedad de enfermedades incluyendo infecciones dérmicas, neumonía, endocarditis, sepsis, osteomielitis e infecciones quirúrgicas ⁽⁸⁾. Previo al descubrimiento de los antibióticos, las

infecciones estafilococcicas eran comúnmente fatales, pero con el descubrimiento de la penicilina en 1940, la sobrevivencia mejoro dramáticamente; sin embargo, poco después de su introducción se reportaron cepas resistentes ⁽⁹⁾, fenómeno que ha incrementado paulatinamente hasta alcanzar el 70-80% de todas las cepas en la actualidad ⁽¹⁰⁾.

La identificación de *S. aureus* resistente a meticilina (SAMR) se reporto un año después de la introducción de la penicilina semi-sintética, meticilina, en 1960⁽¹¹⁾. Rápidamente se convirtió en uno de los patógenos intrahospitalarios mas frecuentes; actualmente es el microorganismo multiresistente que con mayor frecuencia se identifica en hospitales en Estados Unidos de Norte América y otras partes del mundo. A pesar de la prevalencia creciente de SAMR en el ámbito hospitalario dichos organismos son poco frecuentes en la comunidad. No obstante, varios grupos de investigadores han reportado un aumento en la frecuencia de SAMR adquiridos en la comunidad, SAMR-AC. Recientemente y se ha observado que dichas infecciones ocurren aún en ausencia de los típicos factores de riesgo asociados a infección nosocomial por SAMR ^(9,12-16). Al igual que en otros países, también se ha observado un aumento en la prevalencia de bacterias resistentes en hospitales mexicanos en los últimos años ^(8,17,18). De acuerdo a estudios realizados en los 80's, 90's y 2000 la prevalencia de SAMR varia del 7-30%; además de reportes recientes de SAMR en las infecciones adquiridas en la comunidad ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

El fundamento genético de la resistencia a la meticilina en las cepas SAMR, es la presencia del gen *mecA*, un gen que codifica para la proteína fijadora de penicilina de baja afinidad, PBP2, que se localiza en el elemento genético móvil SCC-*mec* (staphylococcal cassette chromosome mec, por sus siglas en ingles). Este elemento contiene dos recombinasas cromosómicas sitio-especificas, *ccrA* y *ccrB*, responsables de la escisión e integración de SCC-*mec* dentro del cromosoma bacteriano ⁽¹¹⁾. Se han caracterizado 4 elementos SCC*mec* independientes. Tres de ellos son comúnmente hallados en cepas nosocomiales de SAMR: 1) tipo I, un elemento de 34kb prevalente en las cepas de los 60s. 2) tipo I, un elemento de 53kb identificado en 1982 ubicado a Japón, Estados Unidos y Corea 3) un elemento de 67kb identificado en 1985 prevalente en Alemania, Austria, India y otras áreas del Pacífico. En contraste con las cepas SAMR nosocomiales, las comunitarias generalmente contienen SCC-*mec* tipo IV del cual se han descrito cuatro subtipos (SCC-*mec* tipo IVa-d) ^(8,11)

La virulencia, o grado de patogenicidad de *S. aureus* guarda relación con varios componentes de la superficie bacteriana y de algunas proteínas extracelulares. En general es difícil evaluar el papel preciso de los factores individuales en las infecciones invasoras, pero la producción de leucocidina Pantón-Valentine (PVL) se ha relacionado con la formación de forúnculos, abscesos cutáneos e infecciones de la piel ⁽²²⁾.

La PVL junto con la gamma-hemolisina y otras leucocidinas, pertenecen a la familia de toxinas sinergohemotrópicas. Dichas toxinas lesionan la membrana de los eritrocitos y células inmunitarias del hospedero, a través de la acción sinérgica con otras dos proteínas, F y S. La gamma-hemolisina es producida por >99% de las cepas de *S. aureus*, su efecto biológico es el resultado de tres proteínas (H1gA y H1gC, pertenecientes a la clase S, y H1gB de la clase F) formando dos pares de proteínas (S+F): H1gA + H1gB, y H1gC + H1gB. Alrededor del 5% de los aislados clínicos de *S. aureus* producen PVL. Todos ellos producen proteínas S y F específicas para PVL (LukS-PV y LukF-PV), así como las tres proteínas de la gamma-hemolisina ⁽²²⁾.

Por lo tanto, estos aislados producen tres clases de proteínas S y 2 clases de proteínas F, resultando en 6 (S+F) pares biológicamente activos. Los dos pares que componen la gamma-hemolisina tienen propiedades leucotóxicas y además son capaces de lisar eritrocitos humanos, bovinos y de conejo, mientras que PVL purificado es únicamente leucotóxico (por inducción de poros) hacia macrófagos y polimorfonucleares, tanto de humanos y como de conejos. ⁽²²⁾

Existen varios reportes clínicos recientes donde se ha relacionado la presencia de PVL con infecciones extradérmicas, específicamente en casos de neumonía complicada. ^(13,15,22,23)

Desde el punto de vista terapéutico, las opciones existentes contra SAMR son escasas. Las penicilinas semi-sintéticas fueron efectivas en el tratamiento de *S. aureus* resistente a penicilina hasta la década de los 80's, cuando SAMR se convirtió en un patógeno endémico en muchos hospitales. Desde la emergencia de SAMR, el glicopéptido, la vancomicina, se ha colocado como la única opción uniformemente efectiva en el tratamiento de infecciones por SAMR. ⁽²⁴⁾ Sin embargo, en mayo 1996 se documentó la primera infección clínica por *S. aureus* con resistencia intermedia a glicopéptidos; y en 2002 se aisló la primera cepa verdaderamente resistente a vancomicina. ^(10,24,25) La emergencia de cepas de SAMR resistentes a penicilina, meticilina y recientemente vancomicina colocan a este patógeno como uno de los principales retos de salud, tanto en el ámbito de las infecciones adquiridas en la comunidad como en aquellas adquiridas en los hospitales.

S. aureus se ha mantenido entre las causas principales de bacteremia y se asocia a gran morbilidad y mortalidad en todos los grupos etarios. ⁽²⁶⁻²⁹⁾ La incidencia de sepsis por cualquier patógeno ha aumentado en las últimas décadas ⁽³⁰⁾ y en estudios recientes hechos en población pediátrica *S. aureus* figura dentro de las principales causas de infecciones nosocomiales. ⁽²⁶⁻²⁹⁾ Distintos factores de riesgo se cree favorecen el riesgo de sepsis en niños, especialmente prematuridad, uso de dispositivos intravasculares, diálisis, nutrición parenteral total, ventilación mecánica, estancia hospitalaria prolongada, tratamiento inmunosupresor y enfermedad crónica. ^(14,27,30,31) La epidemiología y la prevalencia de estos factores de riesgo han cambiado en los últimos 30 años, dado que la terapia inmunosupresora, los procedimientos invasivos y el uso de dispositivos intravasculares son más frecuentes. Además, los avances en la terapia de soporte han mejorado la supervivencia de los recién nacidos prematuros o con anomalías congénitas. Asimismo, se cree que los avances en el tratamiento de soporte han mejorado el desenlace en pacientes con sepsis. ^(32,33)

La prevalencia de infecciones por bacterias resistentes ha aumentado en hospitales mexicanos en las últimas décadas. Sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la prevalencia de bacteriemias por *S. aureus* en la población pediátrica mexicana. El estudio SENTRY describió una prevalencia de 31.5% de SAMR en bacteriemias en Latino América ⁽¹⁹⁾, y algunos reportes nacionales estiman la prevalencia de SAMR del 7-30%. ^(8,17-21,34)

Justificación

Se ha reportado un incremento mundial en las bacteriemias comunitarias y nosocomiales por *S. aureus* en pacientes pediátricos, y dichas infecciones no han sido estudiadas en México.

Preguntas:

¿Cuáles son las características clínicas y microbiológicas de las bacteriemias por *S. aureus* en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?

Objetivo principal:

Describir las manifestaciones clínicas, microbiológicas y respuesta al tratamiento en bacteriemias por *S. aureus*

Objetivos específicos:

1. Describir las características clínicas de los pacientes con bacteriemia por *S. aureus* en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) durante un periodo de 36 meses.
2. Describir las características microbiológicas de los aislados clínicos de *S. aureus* provenientes de bacteriemias en pacientes del HIMFG.
3. Conocer los genotipos predominantes de SAMR en infecciones que ocurren en el HIMFG.
4. Determinar la susceptibilidad a otros antibióticos de última línea como teicoplanina, linezolid, vancomicina y la resistencia inducida a clindamicina en los SAMR.

Pacientes y métodos:

Diseño del estudio: estudio descriptivo, observacional, transversal, ambispectivo, donde detectamos a todos los casos de bacteriemias por *S. aureus*, se realizó consulta de la base de datos del laboratorio de microbiología para identificar a todos los aislados clínicos de SAMR y SAMS del periodo comprendido entre abril de 2004 y marzo de 2007.

Pacientes: Todos los pacientes con uno o más hemocultivos positivos para *S. aureus*.

Criterios de inclusión:

- Un solo aislado clínico de SAMR o SAMS por evento infeccioso diagnosticado en cada paciente.
- Disponibilidad de expediente clínico.

Criterios de eliminación:

- Expediente incompleto o no disponible
- Aislado clínico no recuperable

Definiciones:

1. Cultivos positivos: Se consideraron clínicamente significativos cuando más de un cultivo fue positivo o cuando existieron signos clínicos compatibles con bacteriemia.
2. Bacteriemia adquirida en la comunidad: aislado clínico de *S. aureus* en hemocultivo dentro de las primeras 48hrs de admisión hospitalaria
3. Bacteriemia nosocomial: aislado clínico de *S. aureus* en hemocultivo después de 48hrs de hospitalización.
4. Tratamiento apropiado: administración de antibiótico, en dosis adecuada, al cual se demostró susceptibilidad *in vitro* en el aislado de hemocultivo.
5. Tratamiento retrasado: administración de antibiótico apropiado después de uno o más días de inicio de las manifestaciones de bacteriemia.
6. Tratamiento inapropiado: administración de antibióticos que no mostraron susceptibilidad *in vitro* en el aislado de hemocultivo.

Identificación bacteriana: se identificó *S. aureus* por las siguientes pruebas: morfología colonial (colonias circulares, borde entero, superficie lisa, elevación convexa, colonias brillantes, pigmentación amarilla); morfología microscópica (cocos grampositivos en forma de racimos de uva); e identificación bioquímica: catalasa (+), crecimiento en caldo BHI al 15 % de NaCl (+), y las pruebas de coagulasa (+) y fermentación de manitol (+).

Detección de cepas meticilino resistentes y meticilino sensibles: se detectaron a todos los aislados clínicos tipo SAMR en placas de agar Mueller Hinton suplementadas con NaCl 2% y oxacilina 6 µg/mL. Las placas de agar fueron inoculadas con un volumen de 10 µL de una suspensión con turbidez semejante al estándar 0.5 de Mc Farland y se incubaron a 30°C por 24 horas, las lecturas e interpretación fueron de acuerdo con las especificaciones de la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (REF National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne. Pa.)

Fenotipo de resistencia por concentración mínima inhibitoria (MIC): La concentración mínima inhibitoria de las cepas será determinada por el método de dilución en agar recomendado por el CLSI. Se prepararán placas de agar Mueller Hinton con concentraciones desde 128 µg/ml hasta 0.06 µg/ml de los siguientes antibióticos: oxacilina, amoxicilina-clavulanato, cefaclor, ciprofloxacino, gentamicina, trimetropim-sulfametoxazol, vancomicina, clindamicina, eritromicina, linezolid. Se utilizó una suspensión equivalente al 0.5 de McFarland de cada uno de los aislados y fueron colocados en un replicador, posteriormente depositarlo sobre las placas con los antibióticos. Después de incubar a 35°C/24 horas se registraron los valores de susceptibilidad a los antibióticos.

Resistencia inducible a clindamicina por doble disco: La prueba de doble disco eritromicina-clindamicina se realizó a todos los aislados, colocando los discos de clindamicina (2 µg) y eritromicina (15 µg) a una distancia de 15 a 20 mm sobre agar Mueller-Hinton suplementado con 5 % de sangre de carnero, después de inocular la placa masivamente con una suspensión bacteriana ajustada a una turbidez equivalente al 0.5 del Nefelómetro de McFarland. Después de las 18 horas de incubación, la ausencia de una zona significativa de inhibición alrededor de los

dos discos, indica resistencia constitutiva (fenotipo cMLS). La presencia de una zona de inhibición en forma de D, indica la inducción de la producción de la metilasa para eritromicina, (fenotipo iMLS); y la presencia de una zona de inhibición alrededor del disco de clindamicina sin forma de D, indica el fenotipo M.

Confirmación de resistencia por detección del gen *mecA* por PCR: La resistencia a oxacilina se corroboró mediante la detección del gen *mecA* por técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Detección de SCC-mec tipos I, II, III y IV por PCR y análisis de secuencias de DNA:

Extracción de ADN. Para la purificación de ácidos nucleicos, las cepas se dejaron crecer toda la noche en caldo BHI (13). Se realizaron dos lavados de la bacteria con 500 µL de Tris HCl (10 mM)-EDTA (1mM) (TE) y se sometieron a un proceso enzimático con 50 µL de lisostafina [0.5 mg/mL], 25µL de proteinasa K [100µg] y 25µL de lisozima [2mg/mL] a 37 °C por 1 hora. El DNA genómico fue extraído usando el método de extracción de DNA Wizard®, y la concentración de DNA estimada espectrofotométricamente. El DNA se conservó en congelación a -20°C.

Identificación del gen *mecA* y tipificación del *SCCmec* por PCR-Multiplex. El ensayo contiene 9 pares de oligonucleótidos, incluyendo los oligonucleótidos únicos y específicos para los tipos y subtipos del *SCCmec* I, II, III, IVa, IVb, IVc, IVd, y V, y los oligonucleótidos para el gen *mecA*. (Tabla I). Una alícuota de 2 µL (40ng) de DNA se adiciona a una mezcla de reacción de 23 µL que contiene: 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de cada desoxinucleósido trifosfato [dATP, dGTP, dCTP, dTTP], 1.15 unidades de Taq DNA polimerasa) y varias concentraciones de los respectivos oligonucleótidos (Tabla I).

La amplificación se realizó en un termociclador comenzando con un paso inicial de desnaturalización a 94 °C por 5 minutos, 10 ciclos de 45 segundos a 94°C de desnaturalización, 45 segundos a 65 °C de alineamiento, y 1.5 minutos a 72°C de extensión y otros 25 ciclos de 45 segundos a 94 °C a 45, 45 segundos a 55°C, y 1.5 minutos a 72 °C, y un paso final de extensión de 10 minutos a 72°C seguido de un calentamiento a 4 °C.

Tabla I. Oligonucleotidos usados en este estudio.			
Oligo	Secuencia del Oligonucleotido	Tamaño del amplicón (bp)	Especificidad
Tipo I-F Tipo I-R	GCT TTA AAG AGT GTC GTT ACA GG GTT CTC TCA TAG TAT GAC GTC C	613	SCC <i>mec</i> I
Tipo II-F Tipo II-R	CGT TGA AGA TGA TGA AGC G CGA AAT CAA TGG TTA ATG GAC C	398	SCC <i>mec</i> II
Tipo III-F Tipo III-R	CCA TAT TGT GTA CGA TGC G CCT TAG TTG TCG TAA CAG ATC G	280	SCC <i>mec</i> III
Tipo IVa-F Tipo IVa-R	GCC TTA TTC GAA GAA ACC G CTA CTC TTC TGA AAA GCG TCG	776	SCC <i>mec</i> IVa
Tipo IVb-F Tipo IVb-R	TCT GGA ATT ACT TCA GCT GC AAA CAA TAT TGC TCT CCC TC	493	SCC <i>mec</i> IVb
Tipo IVc-F Tipo IVc-R	ACA ATA TTT GTA TTA TCG GAG AGC TTG GTA TGA GGT ATT GCT GG	200	SCC <i>mec</i> VIc
Tipo IVd-F5 Tipo IVd-R6	CTC AAA ATA CGG ACC CCA ATA CA TGC TCC AGT AAT TGC TAA AG	881	SCC <i>mec</i> IVd
Tipo V-F Tipo V-R	GAA CAT TGT TAC TTA AAT GAG CG TGA AAG TTG TAC CCT TGA CAC C	325	SCC <i>mec</i> V
MecA147-F MecA147-R	GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T	147	<i>mecA</i>

Análisis estadístico: se utilizó estadística descriptiva, las variables continuas se expresan en mediana e intervalo mínimo y máximo y las variables categóricas se expresan en frecuencias. Se realizó χ^2 para las variables categóricas, considerando significativa una $p \leq 0.05$. Los datos se capturarán en una base de datos con base en SPSS v. 12 y se realizó el análisis utilizando SPSS v.12.

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio encontramos 42 casos de bacteriemias con resultados completos para incluir en el análisis. De ellos, 19 (45%) fueron causadas por SAMR (fig. 2). Las características de los pacientes se resumen en el cuadro 1.

Se registraron 29 casos (69%) en población del género masculino y la mediana de edad fue de 34 meses con un rango de 0-207. En términos de edad el grupo etario predominante fue el de lactante con 16 casos, 50% secundarios a SAMR. La mayoría de los pacientes cursaban con una enfermedad subyacente; 89% en el grupo de bacteriemias por SAMR y 78% en el grupo de SAMS.

De los 19 pacientes con bacteriemia por SAMR, 15 (78%) adquirieron la infección dentro del hospital, comparados contra 14 (60%) de los pacientes con adquisición nosocomial de SAMS. De todas las infecciones nosocomiales SAMR fue responsable de 51% de los casos.

Para los eventos de bacteriemia nosocomial por SAMR la estancia mediana en días fue de 13. Todos los casos de bacteriemia por SAMR comunitarios tenían una enfermedad de base, y no se encontró un solo caso de bacteriemia por SAMR comunitario en población sana.

De los pacientes que se encontraban con ventilación asistida a la fecha de toma de cultivo, 70% correspondieron a SAMR, con una mediana en días de intubación de 4 días. Veinticuatro pacientes (57%) tenían un acceso vascular central cuando se documentó la bacteriemia ($p=0.4$), 50% correspondieron a SAMR con una mediana en días de estancia del catéter venoso central de 8 días.

La distribución de bacteriemias por servicio de internamiento se resumen en el cuadro 1.

Existieron 21 casos (50%) de bacteriemia documentada en un servicio de terapia intensiva, de ellas 12 fueron causadas por SAMR (57%) ($p=0.05$). De los pacientes con bacteriemias nosocomiales por SAMR, 9 requirieron de internamiento en un servicio de cuidados intensivos (neonatal, pediátrica o quirúrgica).

Cuarenta y uno de los pacientes del estudio recibieron tratamiento antibiótico posterior al cultivo positivo, el paciente restante desarrollo datos de sepsis choque séptico y falla orgánica múltiple en las primeras horas tras la toma de cultivo y no recibió tratamiento antibiótico pues falleció en las próximas horas tras la toma de la muestra.

La efectividad del tratamiento antibiótico para bacteriemias por SAMR se evaluó comparando el desenlace en pacientes que recibieron tratamiento apropiado contra aquellos que recibieron tratamiento retrasado. Dos de los 11 pacientes con bacteriemias por SAMR con tratamiento retrasado murieron a consecuencia de la infección, comparados contra 1 muerte de los pacientes con tratamiento adecuado ($p=0.57$). La tasa de mortalidad global por *S. aureus* en bacteriemias fue de 14 por 100 bacteriemias. La tasa de mortalidad por SAMR fue de 21 por 100 bacteriemias por SAMR y 8.36 por 100 bacteriemias por SAMS.

De los 15 casos de bacteriemias nosocomiales por SAMR, 14 (93%) fueron cepas multiresistentes, es decir presentaron resistencia a 3 familias distintas de antibióticos. Ocho de dichas cepas (57%) amplificaron cassette cromosómico tipo SCCmec II. De los cuatro casos de bacteriemias comunitarias por SAMR, tres (75%) amplificaron cassette cromosómico tipo II, todos ellos casos de neumonía.

Discusión

Las infecciones por *S. aureus* meticilino resistente son un fenómeno mundial creciente. En este estudio observacional que abarcó un periodo de 3 años observamos que 51% de las bacteriemias nosocomiales por *S. aureus* fueron provocadas por SAMR incluyendo 4 de las 6 muertes atribuibles a la infección. De los casos comunitarios 69% correspondieron a infecciones por SAMS pero describimos la presencia de SAMR adquirido en la comunidad reflejando la creciente importancia de este organismo en infecciones comunitarias.

Una característica particular del grupo lactante es el alto número de bacteriemias nosocomiales. No se documentó un solo caso de bacteriemia por SAMR en este grupo que fuese de origen comunitario.

El perfil de los pacientes con infección por SAMR fue el de pacientes con mayor compromiso, la mayoría fueron menores de 6 meses, con mayor estancia hospitalaria previo al cultivo, 89% tenían una enfermedad previa.

El perfil de los pacientes con bacteriemia por SAMS contrastó con el de SAMR en términos de edad y estancia hospitalaria, sin embargo la mayoría de los casos de este grupo también tenían enfermedad subyacente, esto posiblemente secundario a la población que el hospital atiende. Se documentó un foco infeccioso en 80% de todos los casos de bacteriemia por *S. aureus*. Dos de los casos comunitarios por SAMS fueron consecuencia de infecciones relacionadas a catéteres permanentes en pacientes ambulatorios, sin embargo se documentaron 3 neumonías adquiridas en la comunidad por SAMR, este hallazgo refleja el peligro de diseminación en la población general como ha sido descrito en estudios recientes en otras partes del mundo, vale la pena mencionar que todos estos pacientes tenían una enfermedad subyacente. No se documentaron casos de bacteriemias comunitarias por SAMR en población sana y solo se reportaron dos casos de bacteriemia nosocomial por SAMR en esta población, el primero secundario a infección de herida quirúrgica y el segundo asociada a una línea venosa central. Es decir se confirma la existencia de factores de riesgo para el desarrollo de bacteriemias por SAMR, tanto en la comunidad como en el hospital.

Desde el punto de vista terapéutico 91.3% de los casos de SAMS recibieron tratamiento apropiado contra 31% de los casos de bacteriemia por SAMR. Dos pacientes recibieron tratamiento inadecuado el primero como ya se describió falleció pocas horas tras el inicio de los síntomas de bacteriemia y no recibió ningún antibiótico, el segundo recibió tratamiento antifúngico, sin embargo no presentó un desenlace fatal dentro del hospital, pues el paciente se egreso voluntariamente 2

días tras la toma del cultivo. Trece pacientes recibieron tratamiento retrasado, 92% de ellos correspondieron a bacteriemias por SAMR, de ellos 15% fallecieron a consecuencia de la infección. La efectividad de vancomicina en el tratamiento de infecciones por SAMR en población pediátrica esta bien documentada. Nuestro estudio refleja que el inicio temprano de dicho antibiótico en bacteriemias por SAMR se asocia a una evolución favorable. Es importante identificar aquellos casos que requieren de tratamiento empírico con vancomicina. De acuerdo con los hallazgos descritos en este estudio sugerimos el inicio de tratamiento antibiótico con vancomicina en pacientes que desarrollan datos de bacteriemia con una hospitalización prolongada, enfermedad subyacente y que se encuentren en terapias intensivas.

De todas las cepas estudiadas se aprecia un predominio de multiresistencia en las cepas SAMR, no se describió una sola cepa que fuese resistente a vancomicina o linezolid. Todos los aislados comunitarios de SAMR expresaron cassette cromosómico tipo II que refleja cepas nosocomiales, esto se explica porque todos los pacientes con infecciones comunitarias por SAMR tenían una enfermedad subyacente atendida en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Es necesario continuar con la vigilancia estrecha de la población que el hospital atiende, especialmente aquellos pacientes con internamientos frecuentes y aquellos ambulatorios con dispositivos intravasculares, pues se encuentran en un mayor riesgo de adquisición de bacteriemias comunitarias por SAMR. Asimismo la identificación de cepas comunitarias de SAMR, aunque cuenten con cassette cromosómico tipo II, deben de alertar sobre la diseminación de cepas resistentes a la comunidad en población pediátrica.

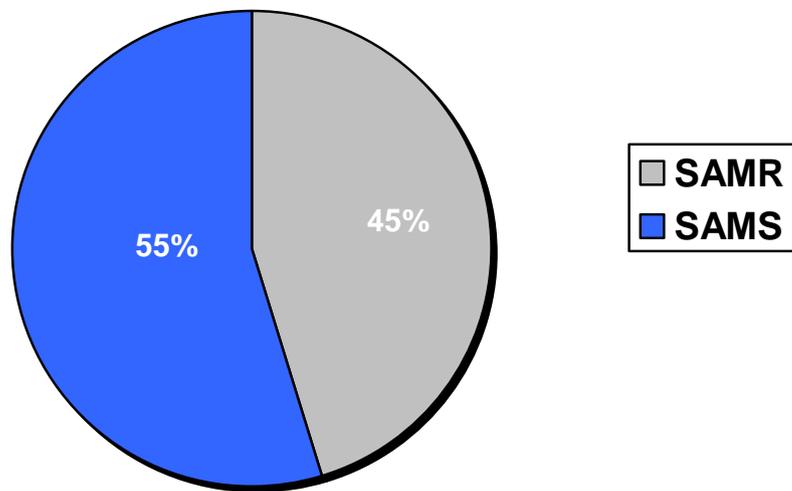


Fig 2. Distribución de casos de bacteriemias por *Staphylococcus aureus*

Cuadro 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes

	SAMR (n=19)	SAMS (n=23)
Género M/F	5/14	8/15
Edad (meses)*	5 (0-207)	62 (0-204)
Recién nacidos	3	2
Lactantes	8	8
Preescolares	3	1
Escolares	1	5
Adolescentes	4	7
Enfermedad subyacente	17	18
Enfermedad oncológica	4	9
Enfermedad renal	2	2
Enfermedad cardiovascular	2	2
Otras enfermedades	10	7
Inmunosupresión	3	6
Maniobras y eventos antes de la infección		

Uso de antibióticos	15	8
Tiempo de estancia hospitalaria*	9 (0-128)	3 (0-64)
Cirugía	9	6
Intubación	7	3
Uso de catéter venoso central	12	12
Servicio de internamiento		
Médico	4	13
Quirúrgico	4	4
Terapias intensivas**	11	6
Adquisición nosocomial	15	14
Posible origen de bacteriemia		
Primaria	3	5
Catéter	4	9
Herida quirúrgica	3	0
Neumonía	6	6
Piel	3	1
Osteoarticular	0	1
Peritonitis	0	1

* Expresada en mediana (rango)

Cuadro 2. Tratamiento, evolución y desenlace de bacteriemias por *S. aureus*

	SAMR (n=19)	SAMS (n=23)
Tratamiento	18	23
Días de duración de tratamiento*	14	14
Desenlace		
Curación	14	21
Muerte por infección	4	2
Muerte por otras causas	1	0

Calificación del tratamiento		
Apropiado	6	21
Retrasado	1	1
Inadecuado	12	1

Expresada en mediana (rangos)

Cuadro 3. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*

	SAMR			SAMS		
	CMI 90	Rango	Resistencia	CMI 90	Rango	Resistencia
Clindamicina	128	0.06-128		128	0.06-128	
Vancomicina	1	0.5-1	0	1	0.5-1	0
Claritromicina	128	0.125-128		128	0.06-128	
Ciprofloxacina	128	0.5-128		2	0.25-32	
Trimetoprim/Sulfametoxazol	2	0.5-128		0.5	0.25-1	
Gentamicina	128	0.25-128		0.5	0.25-128	
Eritromicina	128	0.12-128		128	0.12-128	
Linezolid	4	0.5-8	5	2	0.125-2	0

Referencias:

1. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-54.
2. Siegman-Igra Y, Fourer B, Wasserlauf R, Golan Y, Noy A, Schwartz D, et al. Reappraisal of community acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1431-1439
3. Cisneros JM, Sánchez-González M, Prados MT, Llanos C, Vigil E, Soto-Espinosa B, et al. Hemocultivos en el servicio de urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23:135-139
4. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004;39:309-317
5. Cisneros-Herreros JM, Cobo-Reinoso J, Pujol-Rojo M, Rodríguez-Baño J, Salavert-Lleti M. Guidelines for the diagnosis and treatment of patients with bacteremia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007;25:111-130
6. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Eng J Med* 1998;339:520-532
7. Bannerman TL. Staphylococcus, micrococcus and other catalase-positive cocci that grow aerobically. En Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA y Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology Press, Washington, D. C. 2003:384-404.
8. Velásquez-Meza ME, Aires de Sousa M, Echaniz- Avilez G, et al. Surveillance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric hospital in Mexico City during a 7 year-period (1997-2003): clonal evolution and impact of infection control. *J Clin Microbiol* 2004;42:3877-3880.
9. Chambers H. Community associated MRSA resistance and virulence converge. *N Eng J Med* 2005;352:1485-1487.
10. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* N Eng J Med 1999;340:493-501.
11. Deresisnski S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary , epidemiologic and therapeutic odyssey. *Clin Infect Dis*. 2005;40:562-573.
12. Beam JW, Buckley B. Community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: Prevalence and risk factors. *Journal of athletic training*. 2006;41:337-340.

13. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carrying panton valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003;9:978-984.
14. Salgado C, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta analysis of prevalence and risk factors. *Clin Infect Dis* 2003;36:131-139.
15. Gonzalez BE, Hulten KG, Dishop MK, et al. Pulmonary manifestations in children with invasive community acquired *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis* 2005;41:583-590.
16. Shukla S. Community associates *Staphylococcus aureus* and its emerging virulence. *Clin Med Res* 2005;2:57- 60.
17. Echaniz-Aviles G, Velázquez-Meza ME, Aires de Sousa M, et al. Molecular characterization of a dominant methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone in a Mexican hospital (1999-2003). *Clin Microbiol Infect* 2006;12:22-28.
18. Aires de Sousa M, Miragaia M, Sanchez IS, et al. Three year assessment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America from 1996 to 1998. *J Clin Microbiol* 2001;39:2197- 205.
19. Sader HS, Jones RN, Gales AC, Silva JB, Pignatari AC, . SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. *Braz J Infect Dis*. 2004;8(1):25-79.
20. Alpuche-Aranda C, Avila-Figueroa C, Espinoza-de los Monteros L, Gómez-Barreto D Santos-Preciado JI. Antimicrobial sensitivity profile of *Staphylococcus aureus* at a pediatric hospital: prevalence of resistance to methicillin. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 1989;46(11):700-4.
21. Sifuentes-Osornio J, Pérez-Patrigéon S. Sepsis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the shadow of a persistent threat. *Rev Invest Clin*. 2006;58:598-607.
22. Lina G, Piemont Y, Godail- Gamot F, et al. Involvement of panton valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999;29:1128-32.
23. Etienne J. Panton valentine leukocidin: a marker of severity for *Staphylococcus aureus* infection? *Clin Infect Dis*. 2005;41:591-3.

24. Grayson ML. The treatment triangle for staphylococcal infections. *N Eng J Med* 2006;355:724-7.
25. Bozdogan B, Ednie L, Credito K, Kosowska K, Appelbaum PC. Derivatives of a vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at Hershey Medical center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4762-5.
26. Frederiksen MS, Espersen F, Frimodt-Moller N, et al. Changing epidemiology of pediatric *Staphylococcus aureus* bacteremia in Denmark from 1971 through 2000. *Ped Infect Dis J* 2007; 26:398-405.
27. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial infections in pediatric patients: a European, multicenter prospective study. European Study Group. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21:260-3.
28. Watson RS, Carcillo JA, Linde-Zwirble WT, et al. The epidemiology of severe sepsis in children in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:695-701.
29. Gray J, Gossain S, Morris K. Three-year survey of bacteremia and fungemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:416-21.
30. Current trend increase in National Hospital Discharge Survey rates for septicemia-United States, 1979-1987. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1990;39:31.
31. McHugh MPH, Riley LW. Risk factors and costs associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:425-30.
32. Lukacs SL, Schoendorf KC. Trends in sepsis-related neonatal mortality in the United States, 1985-1998. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:599-603.
33. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis* 2002;2:180-89.
34. Villegas O, Rivera-Martínez E, Lopez Vidal Y, Vazquez Larios R. Susceptibility to antibiotics in blood culture isolates at the national Institute of Cardiology Ignacio Chávez. *Rev Invest Clin* 1994;46:267-277.