



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN NORTE DEL DISTRITO FEDERAL.
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA "DR. DANIEL MENDEZ HERNÁNDEZ"

Prevalencia de bacteremias por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (EARM) y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.

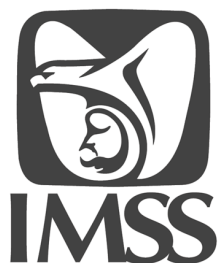
T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA.

PRESENTA:
Dr. Juan Daniel Jaimes Alvarez.

ASESORES: M. en C. Dra. Elena Urdez Hernández.
Q.F.B. Eva Aurora Hernández Sánchez.
Dr. Enrique Alcalá Martínez.

COLABORADORES: Dr. José Juan Terrazas Estrada.
M. en C. Q.F.B. María del Carmen Melchor Díaz.
Dr. Gustavo Barriga Ángulo.



MÉXICO, D.F.

FEBRERO 2015



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.

Dr. Elfego Bautista Cortés.

Coordinador Clínico de Educación e Investigación en Salud, Hospital de Infectología,
Centro Médico Nacional “La Raza” Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dra. Elena Urdez Hernández.

Asesora.

Profesora Titular del Curso de Especialización en Infectología. Hospital de Infectología.
Centro Médico Nacional “La Raza” Instituto Mexicano del Seguro Social.

Q.F.B. Eva Aurora Hernández Sánchez.

Asesora.

Química Farmaceutico Biólogo. Jefa de sección de Bacteriología sanitaria, Laboratorio del
Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional “La Raza”, Instituto Mexicano del
Seguro Social.

Dr. Enrique Alcalá Martínez.

Asesor.

Médico Epidemiólogo adscrito al servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología
Hospitalaria, Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional “La Raza” Instituto
Mexicano del Seguro Social.

IMSS REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE SUBESPECIALIDAD.

Delegación: Norte Unidad de Adscripción: Hospital de Infectología CMN La Raza.

Autor

Apellido Paterno: Jaimés Materno: Alvarez Nombre: Juan Daniel

Matrícula: 99012578 Especialidad: Infectología de Adultos

Fecha de Graduación: 28-02-2015 No. de Registro: R-2014-3502-138

Título de la tesis:

Prevalencia de bacteremias por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (EARM) y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.

RESUMEN.

Introducción. *Staphylococcus aureus* es un microorganismo ubicuo, reconocido como patógeno oportunista para el humano en quien causa enfermedades tan severas como bacteremia. Dicha bacteria incorpora material genético para codificar resistencia a múltiples antibióticos, antisépticos y metales. Particular relevancia tiene cuando *S. aureus* es resistente a meticilina (EARM), y/o reduce la sensibilidad a vancomicina, glucopéptido más utilizado en las infecciones graves. La incidencia de bacteriemia causada por EARM guarda relación directa con el uso de catéteres y su manipulación, con mortalidad mayor al 50%. Generalmente, la susceptibilidad a meticilina y a vancomicina se determina por un método automatizado, el cual es menos exacto que un método estándar.

Objetivo. Determinar la prevalencia de bacteremias por *S. aureus* resistente a meticilina y el patrón de susceptibilidad a la vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández Centro Médico Nacional La Raza, mediante un método estándar.

Material y métodos. De diciembre del 2013 hasta agosto del 2014, se incluyeron casos con bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*. Las características clínico-epidemiológicas fueron recabadas. El microorganismo se conservó para determinar la susceptibilidad a meticilina y vancomicina, mediante dilución en agar, de acuerdo a lo propuesto por el CLSI. Para meticilina, se empleó oxacilina a dos concentraciones, 4 µg/mL y 2 µg/mL, más NaCl al 2%; para vancomicina, 9 diluciones, de 32 a 0.125 µg/mL. El inóculo bacteriano fue de 10⁴UFC. *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* ATCC 43300, se incluyeron como control de calidad. Después de incubar a 35°C por 24 h, el desarrollo de ≥ 1UFC en 4µg/ml de oxacilina, definió la resistencia. Las CMI de 16 µg/ml, 4-8 µg/ml y ≤ 2µg/ml, catalogaron las bacterias como resistentes, intermedias y sensibles a vancomicina, respectivamente.

Resultados. Durante 8 meses, se detectaron 1341 casos con posible bacteremia; la mayoría adultos (96%), hombres (57%), con comorbilidades (85%); un 44%, con hospitalizaciones anteriores, el 84% portaba catéter vascular y el 65% había utilizado antibióticos previamente. La prevalencia de bacteremias por *Staphylococcus aureus* fue 1.9% (25/1341), ocupando el cuarto lugar entre los microorganismos aislados; el antecedente de hospitalizaciones previas, uso de catéter vascular y el empleo anterior de antimicrobianos, se asociaron significativamente con las bacteremias. En el grupo de *S. aureus*, la resistencia a meticilina fue del 60%; no se observó resistencia a vancomicina; pero para el 80% (20/25), la CMI fue de 2 µg/ml y para el 12% (3/25), de 4µ/ml. El sistema automatizado, detectó sólo dos *S. aureus* (8%) con CMI de 2 µg/ml.

Conclusiones. La elevada tasa de meticilino-resistencia y el decremento en la susceptibilidad a vancomicina de *S. aureus* es un hecho. Resulta indispensable fortalecer las estrategias de vigilancia y control de las infecciones, así como pugnar por un control más estricto del uso de antimicrobianos, con la finalidad de abatir la prevalencia de bacteremias causadas por *S. aureus* resistente a meticilina y limitar la presión selectiva ejercida por la vancomina.

Palabras clave: EARM, Oxacilina, Vancomicina.

Tipo de Estudio: Estudio de prevalencia, observacional, transversal, retrolectivo.



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



"2014, Año de Octavio Paz".

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3502
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA, D.F. NORTE

FECHA 17/09/2014

M.C. ELENA URDEZ HERNANDEZ

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Prevalencia de bacteriemias por Staphylococcus aureus resistente a meticilina (EARM) y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro

R-2014-3502-138

ATENTAMENTE

DR.(A). GUILLERMO CAREAGA REYNA

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3502

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Instituto Mexicano del Seguro Social
Hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez Hernández”
Centro Médico Nacional “La Raza”

TÍTULO:

Prevalencia de bacteremias por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (EARM) y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.

ALUMNO:

Dr. Juan Daniel Jaimes Alvarez. Residente de Infectología Adultos. Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. CMNR. IMSS. Zaachila S/N. Teléfono: 55832211. Conmutador 57821088 y 57245900. Ext.23924. Correo electrónico: bunker182@hotmail.com

ASESORES:

Dr. Elena Urdez Hernández. Médico Adscrito al servicio de Infectología Adultos del Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. CMNR. IMSS. Profesora Titular del Curso de la Especialidad de Infectología Adultos. Facultad de Medicina UNAM. Teléfono: 55832211 Conmutador 57821088 y 57245900. Ext. 23924. Correo electrónico: elena_urdez_hdz@yahoo.com.mx

QFB. Eva Aurora Hernández Sánchez. Jefa de la sección de Bacteriología Sanitaria del Laboratorio Clínico. Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. CMNR. IMSS. Teléfono: 55832211. Conmutador 57821088 y 57245900. Ext. 23942. Laboratorio de Microbiología. Correo electrónico: qfb_evaaura@yahoo.com.mx

Dr. Enrique Alcalá Martínez. Médico Adscrito al servicio de Epidemiología Clínica del Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. CMNR. IMSS. Teléfono: 55832211. Conmutador 57821088 y 57245900. Ext 23922. Epidemiología Clínica. Correo electrónico: roldan79@hotmail.com

COLABORADORES:

Dr. José Juan Terrazas Estrada. Jefe de servicio de Infectología. Hospital de Especialidades Dr. Antonio Fraga Mouret. CMNR. IMSS. Teléfono: 57820129. Ext. 23050. Correo electrónico: juan.terrazas@imss.gob

QFB. María del Carmen Melchor Díaz. Jefa de sección de Bacteriología del Laboratorio Clínico. Hospital de Especialidades Dr. Antonio Fraga Mouret. CMNR. IMSS. Teléfono: 57820129. Ext. 23090. Correo electrónico: calloyis@yahoo.com.mx

Dr. Gustavo Barriga Angulo. Jefe de Laboratorio Clínico. Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. CMNR. IMSS. Teléfono: 55832211. Conmutador 57821088 y 57245900. Ext. 23941. Correo electrónico: barriga.angulo@imss.gob

Agradecimientos:

Al creador que desde arriba... Dirige este circo de locos.

A mi ángel de la guarda "Abue Ana María".

A mi mamá y mejor amiga... Cecilia, fuente de sabiduría, consejos, inspiración... Y todas esas cosas que hacen mi vida mejor.

A mi padre... Gregorio, le debo el gusto a esta arte llamado medicina.

A mis queridos hermanos Greg y Atzina siempre a mi lado y apoyandome en el camino.

A Carmelita, "mi niña" dulce de algodón y calma, en esos momentos amargos del andar.

A mis maestros que inspiraron en mí ese gusto por todo lo que significa la infectología: Dra. Urdez, Dr. Schabib, Dra. Hernández, Dra. Torres, Dra. Miralrio, Dr. Alcalá, Dr. Luna, Dra. Dea, QFB Hernández (Evita), QFB Resendiz (Chucho). Así como a esa persona que un día dijo "Nada pierdes"... (Alex), la inspiración siempre es poder amigo.

A los tres mosqueteros (Alex, Mickey y Lalo) que me acompañaron en la aventura. Este D`Artagnan no se hubiera divertido ni aprendido. Gracias amigos.

A todas esas personitas, que serían una lista interminable, que conocí en estos 2 años en La Raza y compartieron un pedacito de vida con su servidor.

A los pacientes, que siempre contribuyen al quehacer médico diario, y siempre serán nuestros libros abiertos.

ÍNDICE

Resumen	1
Antecedentes científicos	2-8
Planteamiento del problema	9
Pregunta de investigación	10
Justificación	11
Objetivo	12
Material y Métodos	13-18
Consideraciones éticas	19
Análisis de datos	20
Resultados	21-22
Discusión	23-24
Anexos	25-39
Referencias bibliográficas	40-43

RESUMEN.

Introducción. *Staphylococcus aureus* es un microorganismo ubicuo, reconocido como patógeno oportunista para el humano en quien causa enfermedades tan severas como bacteremia. Dicha bacteria incorpora material genético para codificar resistencia a múltiples antibióticos, antisépticos y metales. Particular relevancia tiene cuando *S. aureus* es resistente a meticilina (EARM), y/o reduce la sensibilidad a vancomicina, glucopéptido más utilizado en las infecciones graves. La incidencia de bacteriemia causada por EARM guarda relación directa con el uso de catéteres y su manipulación, con mortalidad mayor al 50%. Generalmente, la susceptibilidad a meticilina y a vancomicina se determina por un método automatizado, el cual es menos exacto que un método estándar.

Objetivo. Determinar la prevalencia de bacteremias por *S. aureus* resistente a meticilina y el patrón de susceptibilidad a la vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández Centro Médico Nacional La Raza, mediante un método estándar.

Material y métodos. De diciembre del 2013 hasta agosto del 2014, se incluyeron casos con bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*. Las características clínico-epidemiológicas fueron recabadas. El microorganismo se conservó para determinar la susceptibilidad a meticilina y vancomicina, mediante dilución en agar, de acuerdo a lo propuesto por el CLSI. Para meticilina, se empleó oxacilina a dos concentraciones, 4 µg/mL y 2 µg/mL, más NaCl al 2%; para vancomicina, 9 diluciones, de 32 a 0.125 µg/mL. El inóculo bacteriano fue de 10⁴UFC. *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* ATCC 43300, se incluyeron como control de calidad. Después de incubar a 35°C por 24 h, el desarrollo de ≥ 1UFC en 4µg/ml de oxacilina, definió la resistencia. Las CMI de 16 µg/ml, 4-8 µg/ml y ≤ 2µg/ml, catalogaron las bacterias como resistentes, intermedias y sensibles a vancomicina, respectivamente.

Resultados. Durante 8 meses, se detectaron 1341 casos con posible bacteremia; la mayoría adultos (96%), hombres (57%), con comorbilidades (85%); un 44%, con hospitalizaciones anteriores, el 84% portaba catéter vascular y el 65% había utilizado antibióticos previamente. La prevalencia de bacteremias por *Staphylococcus aureus* fue 1.9% (25/1341), ocupando el cuarto lugar entre los microorganismos aislados; el antecedente de hospitalizaciones previas, uso de catéter vascular y el empleo anterior de antimicrobianos, se asociaron significativamente con las bacteremias. En el grupo de *S. aureus*, la resistencia a meticilina fue del 60%; no se observó resistencia a vancomicina; pero para el 80% (20/25), la CMI fue de 2 µg/ml y para el 12% (3/25), de 4µ/ml. El sistema automatizado, detectó sólo dos *S. aureus* (8%) con CMI de 2 µg/ml.

Conclusiones. La elevada tasa de meticilino-resistencia y el decremento en la susceptibilidad a vancomicina de *S. aureus* es un hecho. Resulta indispensable fortalecer las estrategias de vigilancia y control de las infecciones, así como pugnar por un control más estricto del uso de antimicrobianos, con la finalidad de abatir la prevalencia de bacteremias causadas por *S. aureus* resistente a meticilina y limitar la presión selectiva ejercida por la vancomina.

1. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

• 1.1 INTRODUCCIÓN.

Staphylococcus aureus es un microorganismo ubicuo, de gran importancia médica, reconocido como patógeno oportunista para el humano en quien puede causar una amplia gama de enfermedades ya que posee diversos factores de virulencia que le permiten afectar cualquier aparato/sistema causando infecciones menores, como forúnculos, impétigo, heridas posquirúrgicas o muy severas, como la fascitis necrosante, neumonía, endocarditis, osteomielitis, abscesos musculares, urogenitales o del sistema nervioso central y bacteremias.¹

Taxonomía. *S. aureus* forma parte de la familia *Staphylococcaceae*, género *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes, varias de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre, especialmente en la región anterior de las fosas nasales, donde se encuentra en forma persistente en 20% de la población y en 30%, de manera intermitente.²

Descripción de género. Es un coco grampositivo, no móvil. No forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. El microorganismo produce catalasa, típicamente coagulasa y crece rápidamente en agar sangre. Sus colonias miden de 0.5-1.5 μm , producen un pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 h.³

Factores de virulencia y enfermedad. *S. aureus* es una bacteria compleja, que ocasiona la enfermedad mediante sus componentes estructurales y las proteínas que secreta, factores que comparten dos características generales en la patogénesis de la infección: un factor puede ser responsable de varias funciones y múltiples factores de virulencia pueden desempeñar la misma función.⁴

Entre los componentes estructurales se encuentran las proteínas de superficie, la cápsula y la pared celular. Las proteínas superficiales se producen durante la fase

exponencial del crecimiento bacteriano; son casi 20, a mencionar la coagulasa, proteína A, proteína fijadora de elastina, la proteína fijadora de colágeno, la proteína fijadora de fibronectina y el factor de coagulación; la mayoría median la adherencia de la bacteria a los tejidos del hospedero, por lo que son clave para iniciar las infecciones asociadas a cuerpos extraños, endocarditis y osteomielitis. La cápsula, integrada por polisacáridos, no se produce en todos los aislados, prevalece la tipo 5 y 8; es antifagocítica e induce la formación de abscesos. La pared celular, se integra por una capa gruesa de peptidoglucano y por los ácidos teicoicos. El péptidoglucano suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular, induce la producción de interleucina-1 (pirógeno endógeno) y de anticuerpos opsonicos en los monocitos; puede atraer químicamente a los leucocitos polimorfonucleares, posee actividad parecida a endotoxina, genera un fenómeno de Shwartzman localizado y activa al complemento. Los ácidos teicoicos, polímeros de glicerol o fosfato ribitol, están unidos al peptidoglucano y pueden ser antigénicos. Los anticuerpos antiteicoicos, detectables mediante difusión en gel, pueden observarse en pacientes con endocarditis activa causada por *S. aureus*.⁵ Entre las proteínas secretadas por *S. aureus*, se encuentran las leucocidinas, proteasas, lipasas, elastasas, nucleasas, epidermolisinas y superantígenos. Dichas proteínas, sintetizadas durante la fase estacionaria del desarrollo bacteriano, tienen las características generales siguientes: leucocidinas, como la de Panton-Valentine y la toxina- α , forman poros en los leucocitos propiciando la lisis subsecuente; se asocian a infecciones invasivas de la piel y con neumonía necrosante. Las proteasas, lipasas, elastasas, nucleasas, y epidermolisinas, se relacionan con la destrucción tisular y focos metastásicos de la bacteria. Finalmente, *S. aureus* secreta superantígenos, como la enterotoxina B y la toxina 1, del síndrome de choque tóxico, moléculas que inducen la liberación exagerada de citosinas, generando un cuadro clínico similar a la sepsis.⁶

Patogenicidad. Las infecciones por *S. aureus* comienzan por la llamada colonización, la cual puede ocurrir tanto en niños como en adultos. La bacteria se encuentra generalmente en las fosas nasales y en ocasiones en la piel o en la

ropa, y de estos sitios *S. aureus* puede transmitirse a otras regiones del cuerpo o membranas mucosas. Si la piel o mucosas se rompen por trauma o cirugía, *S. aureus* que es un patógeno oportunista, puede acceder al tejido cercano a la herida provocando daño local o enfermedades de amplio espectro.⁷

Susceptibilidad a los antimicrobianos. Las bacterias han desarrollado estrategias variadas y complejas para protegerse contra los antibióticos a través de mutaciones o adquisición de material genético, lo que les permite incluso desarrollar resistencia a antimicrobianos a los que no se habían expuesto. El *S. aureus* es capaz de incorporar material genético para codificar resistencia a múltiples antibióticos, antisépticos y metales, el cual puede proceder tanto de microorganismos del mismo género (inter-intraespecie) como de otros géneros bacterianos. Dicha capacidad se facilita cuando la bacteria ya ha adquirido el rasgo de resistencia a la meticilina (gen *mecA*). Tal rasgo, le confiere un mecanismo efectivo de protección contra todos los betaláctamicos. A partir del primer aislamiento de *S. aureus* resistente a meticilina (EARM) en 1961, la diseminación del microorganismo ha sido mundial. Las infecciones inicialmente se confinaron a los hospitales (EARM-NC), pero desde 1990, han aparecido en la comunidad (EARM-AC) y en el ganado.⁸

El gen *mecA* está insertado en un elemento genético móvil llamado casete estafilocócico del cromosoma *mec* (SCC *mec*, por sus siglas en inglés). En base a dicho material genético se han establecido diferencias generales entre las infecciones causadas por EARM-AC y el EARM-NC.⁹

DIFERENCIAS DE S. AUREUS COMUNITARIO Y NOSOSCOMIAL	
EARM-AC	EARM-NC
Resistente por lo general sólo a betaláctamicos y ocasionalmente a macrólidos.	Resistentes a múltiples antibióticos.
Contienen SCC <i>mec</i> tipos IV y V-VII.	Contienen SCC <i>mec</i> tipo I, II, III y VIII.
Presentan sólo unas pocas toxinas, en	Presentan gran cantidad de toxinas.

especial Leucocidina Panton-Valentine.	
Provocan principalmente infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante y septicemia.	Provocan múltiples procesos infecciosos.
Cepas aisladas en la comunidad en pacientes que no tienen factores de riesgo de una infección nosocomial.	Cepas aisladas en pacientes con factores de riesgo para infección nosocomial.
Dos clonas principales USA 300 y USA 400.	Seis clonas pandémicas: ibérica, brasileña, húngara, New York/Japón, pediátrica y SARM-16.

- **1.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES CAUSADAS POR EARM.**

EARM se ha diseminado mundialmente. Las frecuencias reportadas son muy variables: para Europa, el Sistema de Vigilancia Europeo de Antibióticos en el 2006, reportó una incidencia de *S. aureus* resistente a meticilina con una rango de 0.2 por 100 000 pacientes/día en Dinamarca, a 26.9 en Portugal; para los Estados Unidos de Norteamérica, el Surveillance Network-USA reportó que las tasas de EARM oscilaron del 48% al 55%, entre los aislados obtenidos de pacientes no hospitalizados y de sujetos atendidos en la unidad de cuidados intensivos, respectivamente en el 2005.¹⁰

En América Latina, la proporción de infecciones nosocomiales causadas por EARM, es mayor al 50%, en 9 de 17 países, con rango oscilante de 6% para Cuba a 93% en Brasil.¹¹

Las infecciones por EARM se presentan predominantemente en el sistema respiratorio, tejidos blandos y como infecciones del torrente sanguíneo o bacteremias. Las bacteremias, son particularmente relevantes, por la tasa de mortalidad observada del 34% (rango de 0.0% al 83%).¹²

La prevalencia reportada para dicha entidad es variable. Entre los países de la Comunidad Europea, la proporción de EARM en bacteremias de 1999 a 2002, se reportó menor del 1% en los países del norte, y mayor del 40% en las comunidades del sur/oeste.¹³

En un estudio mexicano de tasas de bacteremias en 2 décadas de seguimiento 1990-2009 se encontró, que el 37% de 1843 aislados correspondió al género *Staphylococcus*; el 15% correspondió fue *S. aureus*, el 40% resistente a metilina; no se reportó resistencia a vancomicina.¹⁴

La relevancia clínica de la bacteremia y de la endocarditis por *S. aureus* resistente a la metilina EARM es enorme. El incremento en la incidencia de bacteremia y endocarditis por EARM está en relación con el uso creciente de catéteres y la realización de manipulaciones vasculares. Los antibióticos glucopéptidos han sido los fármacos de referencia para el tratamiento de estas infecciones, principalmente vancomicina, la cual se ha empleado durante más de 30 años. Sin embargo de 18 años a la fecha, la susceptibilidad del microorganismo está cambiando como lo evidencian los reportes de infecciones con EARM con susceptibilidad intermedia y la aparición de casos con resistencia al glucopéptido los cuales suman 13, hasta julio del 2013: la mayoría en Estados Unidos (9), Irán, India, Brasil y Portugal. La aparición de otros antibióticos, como el linezolid y la daptomicina, y en el futuro de otros compuestos, como la dalvabancina, el ceftobiprole o la telavancina, pueden constituir otras alternativas terapéuticas, pero no garantizan eficacia, pues de nueva cuenta la versatilidad del microorganismo se ha manifestado con mutaciones puntuales, al menos para el linezolid.¹⁵

- **1.3 RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS.**

La resistencia a la metilina está dada por una alteración en el sitio diana de los β -lactámicos con la adquisición de la proteína fijadora de penicilinas 2a (PBP2a), la cual está codificada por el gen *mec A*, contenido en un casete móvil, el SCC*mec*. Hay 5 subtipos de SCC*mec* (I-V) donde sólo los pequeños (I, IV, V) presentan genes responsables de la resistencia a la metilina, no así a otros antibióticos no- β -lactámicos.¹⁶

- 1.3.1 Métodos para detectar resistencia a metilina.**

La detección de la resistencia a la metilina puede efectuarse por métodos fenotípicos o genotípicos. Entre los primeros, se cuenta con la difusión de cefoxitina en agar, la cual suele emplearse para tamizaje; la microdilución de oxacilina en caldo o en agar, considerados el estándar de comparación, y la

detección de la proteína PBP2a, mediante aglutinación. Entre los segundos, la prueba de reacción en cadena de la polimerasa, para identificar al gen *mec*.¹⁷⁻¹⁹

La sensibilidad y especificidad reportadas para las diferentes pruebas son las siguientes:

1. Métodos fenotípicos

- Difusión en agar, con disco de cefoxitina 30µg, 99% y 100%.
- Microdilución en caldo o agar, 98% y 100%.

2. Métodos comerciales derivados

- Prueba E (combina difusión y microdilución en agar de oxacilina), 99% y 98%.
- Sistemas automatizados, en especial VITEK 2, 91% y 73%.
- Aglutinación en látex, 98% y 100%.

3. Métodos genotípicos

- Prueba de reacción en cadena de polimerasa para detección de *mecA*, 100% y 95%.

1.3.2 Resistencia a vancomicina.

El uso de la vancomicina en pacientes con infecciones severas ha condicionado modificaciones en la susceptibilidad de *S. aureus* en dos formas: susceptibilidad reducida o resistencia a vancomicina. La primera se asocia a una alteración en la expresión de múltiples elementos genéticos regulatorios que fenotípicamente se caracterizan por incremento en el grosor de la pared, alteración en los perfiles de las proteínas fijadoras de penicilina, promedios reducidos de autólisis de la pared²⁰ y una concentración mínima inhibitoria (CMI) a vancomicina de 4-8 µg/mL (susceptibilidad intermedia). La segunda se relaciona con la presencia del gen *vanA* y una CMI a vancomicina $\geq 16\mu\text{g/mL}$.²¹

1.3.3 Métodos para detectar la susceptibilidad a vancomicina.

La susceptibilidad a vancomicina se puede determinar por los siguientes métodos: difusión en agar (disco de vancomicina 30µg), el cual es aceptado para *S. aureus* resistente a vancomicina, pero no es satisfactorio para las cepas vancomicino intermedias. La dilución en agar y la dilución en caldo, son los métodos estándar para determinar la susceptibilidad a vancomicina. Métodos comerciales, como la

prueba E que combina difusión y dilución, y los métodos automatizados como los sistemas VITEK y Microscan. Estos sistemas se fundamentan en el método estándar de microdilución, pero su exactitud es reducida.²²⁻²³

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Aunque la bacteremia se considera una urgencia infectológica por la alta mortalidad que puede alcanzar (83%), es una de las entidades más subregistradas en los hospitales. Entre los agentes causales de bacteremia, *Staphylococcus aureus* ocupa del 10-50% de los aislados en el ámbito hospitalario, reportados por varios investigadores. Dicho microorganismo ha demostrado su capacidad para adquirir diversos factores de resistencia desde 1961, cuando se identificó la resistencia a meticilina, característica que ya es un problema mundial y de gran importancia para el clínico, pues EARM, suele contar con elementos de resistencia para varios antimicrobianos como son fluoroquinolonas, TMP-SMX, rifampicina, clindamicina, aminoglucósidos, cefalosporinas, carbapenémicos, entre otros por lo que el tratamiento consecuente es un glucopéptido, comúnmente vancomicina.

A diferencia de otros antimicrobianos, la vancomicina se había mantenido estable en su efecto para SARM, sin embargo durante las últimas dos décadas se ha observado gradual incremento de infecciones causadas por EARM con susceptibilidad intermedia, así como algunos casos con resistencia. Últimamente se han informado fallas terapéuticas al emplear dicho glucopéptido no obstante que la CMI que presentaban los microorganismos se encontraba en el rango de susceptibilidad ($CMI \leq 2 \mu\text{g/mL}$).

En nuestro medio, la susceptibilidad antimicrobiana se determina por el método automatizado VITEK 2. Para la meticilina, dicho sistema ha mostrado una sensibilidad del 91% y una especificidad del 73%. Para la vancomicina, el método no es exacto, ya que a los aislados con CMI intermedia (4-8 $\mu\text{g/mL}$) los puede reportar como sensibles.

Sin embargo, no se cuenta con una estrategia confirmatoria accesible, con mayor exactitud como puede ser el método estándar.

Por tanto, la posibilidad de mal uso de la vancomicina existe.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia de bacteremias causadas por EARM y cuál es su perfil de susceptibilidad a la vancomicina, en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández Centro Médico Nacional La Raza?

3. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo se integra a la vigilancia epidemiológica que cotidianamente se realiza por parte de Epidemiología Hospitalaria, con lo que se pretende, contar con la caracterización de una entidad subregistrada: la bacteremia.

Se enfoca al estudio de un microorganismo muy versátil, de problemática mundial, cuyo perfil de susceptibilidad a metilina y vancomicina conviene determinar a nivel local con un método más exacto que el usual, para establecer el comportamiento actual de la bacteria.

Los datos sólidos generados sobre susceptibilidad a metilina y vancomicina de *S. aureus*, serán de apoyo para que el Comité de Control de Antimicrobianos realimente el proceder médico, con respecto al uso de vancomicina, pugnando por un uso racional.

Desde el punto de vista de factibilidad, es un proyecto viable ya que forma parte de la atención infectológica cotidiana.

Por lo tanto la realización de este trabajo será de mucha utilidad.

4. OBJETIVOS

General:

Medir la prevalencia de bacteremias por EARM y su patrón de susceptibilidad a la vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández Centro Médico Nacional La Raza.

Hipótesis:

No amerita.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio de prevalencia.

Por incluir un solo grupo: descriptivo

Por la manipulación de la maniobra: observacional

Por las mediciones realizadas: transversal

Por la forma de recopilar la información: retrolectivo

Los casos de bacteremias fueron detectados en el laboratorio de bacteriología, procediendo a recabar la información pertinente clínico epidemiológica, mediante un cuestionario (Hoja de Recolección de datos). El microorganismo se conservó para confirmar el fenotipo de resistencia a meticilina y la CMI para vancomicina. La información fue capturada inicialmente en hoja de recolección de datos y posteriormente fue vaciada a programa lo que permitió crear, relacionar y analizar la base de datos SPSS versión 21.

5.2 POBLACIÓN.

Se incluyeron todos los casos consecutivos de bacteremia causada por *S. aureus* atendidos por el servicio de infectología. Durante el periodo comprendido de diciembre del 2013 a agosto del 2014.

5.2.1 Criterios de inclusión.

- Al menos 1 hemocultivo periférico con desarrollo de *S. aureus*

5.2.2 Criterios de exclusión

- No aplica

5.2.3 Criterios de eliminación

- Pérdida de información clínico-microbiológica.

5.2.4 Definición de variables: bacteremia, susceptibilidad a oxacilina y susceptibilidad a vancomicina.

1. Bacteremia por *S. aureus*

Definición conceptual: estado clínico durante el cual existen microorganismos viables en el torrente sanguíneo, transitoria o permanentemente, con o sin síntomas.

Bacteremia nosocomial: cuando se detecta un hemocultivo positivo, en un paciente que lleva ingresado más de 48 h en el hospital. También dentro de las primeras 48 h, pero que se han originado o están directamente relacionadas con algún tipo de manipulación invasiva realizada al ingreso en el hospital, como la colocación de un catéter intravascular o la colocación de una sonda vesical.

Bacteremia adquirida en la comunidad: cuando la infección ocurre en un paciente antes del ingreso en el hospital o cuando el episodio ocurre dentro de las 48 h de ingreso y no está relacionada con ningún procedimiento realizado después del ingreso.

Definición operacional: desarrollo de *S. aureus* en por lo menos 1 hemocultivo periférico.

Indicador: positivo, negativo

Escala de medición: nominal

2. Susceptibilidad a oxacilina

Definición conceptual: efecto en el desarrollo de *S. aureus* que resulta de la exposición del microorganismo a diferentes concentraciones de oxacilina.

Definición operacional: concentración mínima de oxacilina que inhibe el desarrollo visible del microorganismo (CMI): CMI ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ =resistente (R).

Indicador: sensible, resistente

Escala de medición: nominal dicotómica

3. Susceptibilidad a vancomicina

Definición conceptual: Efecto en el desarrollo de *S. aureus* que resulta de la exposición del microorganismo a diferentes concentraciones de vancomicina.

Definición operacional: concentración mínima de vancomicina que inhibe el desarrollo visible del microorganismo (CMI): CMI $\geq 16\mu\text{mL}$ = resistente (R); CMI, 4-8 $\mu\text{g/mL}$ = Intermedio (I) y CMI $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ = sensible (S).

Indicador: sensible, intermedio, resistente

Escala de medición: ordinal

5.2.5 Ubicación espacio-temporal

Este estudio se llevó a cabo en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza durante el periodo comprendido de enero a octubre del 2014.

5.2.6 Número de sujetos requeridos y justificación

Se utilizó una prevalencia de 50% tomando en cuenta que las cifras reportadas son muy diversas.

Tamaño de Muestra.

$$n = \frac{Z_a^2 * p * q}{d^2}$$

$$n = \frac{1.96^2 p(1-p)}{d^2}$$

$$d^2$$

En donde:

- Z_a^2 = Coeficiente de confiabilidad (1.96^2)
- p = Prevalencia Probable (50%)
- q = $1-p$
- d^2 = precisión (0.05)
- **N= 376**

5.2.7 Especificación de variables

Demográficas.

- Edad
- Sexo

Clínico-Epidemiológicas.

- **Diagnóstico actual:**

- Infección de vías urinarias
- Neumonía adquirida en la comunidad
- Neumonía nosocomial
- Infección relacionada a catéter
- Infección de piel y tejidos blandos
- Infección de sitio quirúrgico
- Infección de prótesis/material de osteosíntesis
- Otras

- **Enfermedades subyacentes:**

- Diabetes mellitus
- Hipertensión arterial
- Insuficiencia renal
- Cáncer
- Lupus eritematoso sistémico
- Artritis reumatoide
- Consumo crónico de esteroide (5mg prednisona x 2 sem)
- Otros

- **Factores de riesgo:**

- Diálisis peritoneal
- Hemodiálisis
- Cirugía (último año)
- Hospitalizaciones (año previo)
- Catéter vascular
- Sonda urinaria
- Tratamiento actual con antimicrobianos

Uso previo de antimicrobianos (1 semana)

Microbiológicas.

- Bacteriemia real.
- Pseudobacteriemia.
- **Aislamientos.**
 - Gram Positivos
 - S aureus*
 - CONs (*Staphylococcus* coagulasa negativo)
 - Enterococcus spp*
 - Gram Negativos
 - P. aeruginosa*
 - A baumannii*
 - Klebsiella spp*
 - Enterobacter spp*
 - E coli*
 - Hongos
 - Candida spp*

5.3 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

5.3.1. Aislados. Se incluyeron aislados de sangre, cuya identificación como *S. aureus* así como la susceptibilidad a meticilina y vancomicina fueron efectuadas con el método automatizado VITEK 2. Previa verificación de morfología en placa, evidencia de cocos gram positivos agrupados en racimos, catalasa y coagulasa positivos, se procedió a conservar el aislado en caldo soya tripticaseina con glicerol al 5% (anexo 10.1), a - 20°C.

5.3.2. Susceptibilidad a oxacilina. Se realizó técnica estándar de dilución en agar (CLSI 2014)²⁴. Se utilizaron placas de agar Mueller-Hinton más NaCl al 2% (anexo 10.3.1), con oxacilina a concentraciones de 4 y 2 µg/mL y (anexo 10.2.1). Previa activación (anexo 10.4) de los aislados conservados, en dichas placas se depositó un inóculo de 10⁴ UFC (anexo 10.5). La incubación fue a 35-37°C, durante 24 h. Controles de calidad: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

meticilino-sensible (*mecA* negativo) y *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, meticilino-resistente (*mecA* positivo). El desarrollo de ≥ 1 UFC, catalogó al aislado como meticilino-resistente.

5.3.3 Susceptibilidad a vancomicina. Se determinó la CMI a vancomicina mediante la técnica estándar de dilución en agar (CLSI 2014): Placas de agar Mueller-Hinton, (anexo 10.3.2), con 9 concentraciones de vancomicina (16-0.125 $\mu\text{g/mL}$) (anexo 10.2.2), fueron inoculadas con 10^4 UFC (anexo 10.5) procedentes de aislados de *S. aureus* previamente activados (anexo 10.4). Las placas inoculadas se incubaron a 35-37°C, durante 24h. Controles de calidad: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, sensible a vancomicina, y *E. faecalis* ATCC 52299, resistente a vancomicina. El desarrollo de ≥ 1 UFC: en la placa con 16 $\mu\text{g/mL}$, determino al aislado como resistente; en concentraciones ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$, como sensibles y en el rango 4-8 $\mu\text{g/mL}$, se catalogaron como intermedios.

6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Regulaciones Locales/Declaración de Helsinki. El estudio se realizó en pleno cumplimiento de los principios de la Declaración de Helsinki (con sus respectivas reformas en Tokio, Venecia, Hong Kong y Sudáfrica) y con las leyes y regulaciones de la República Mexicana. El estudio cumplió estrictamente los principios establecidos en los Lineamientos para las Buenas Prácticas Clínicas y Lineamientos Tripartitos ICH (Enero 1997).

7. ANÁLISIS DE DATOS

Univariado: Se estimaron frecuencias simples, medidas de tendencia central y de dispersión. Así como, prevalencias con intervalos de confianza al 95%, para obtener la prevalencia de bacteremias por EARM.

Bivariado: Se realizaron comparaciones por medio de la prueba de Chi cuadrada (X^2) de Mantel y Haenzel, o prueba exacta de Fisher; así mismo, se calcularon Razones de Momios de Prevalencia (RMP), Intervalos de Confianza al 95% (IC 95%). El valor de $p < 0.05$ se consideró como significativo.

Multivariado: Se construyó un modelo de regresión logística, dicotomizando a la variable dependiente. Se consideró significativo la $P < 0.05$.

El análisis de los datos se realizó por medio del paquete estadístico SPSS 21 for Windows. Inc. Chicago, Illinois, USA, 2002 y Epidat V 3.1.

8. RESULTADOS.

Población.

Se estudiaron 1341 casos con posible bacteremia, de diciembre 2013 a agosto del 2014, quienes presentaron las siguientes características relevantes: la mayoría fueron adultos (96%), con comorbilidades (85%), de las cuales las neoplasias hematológicas y la diabetes mellitus comprendieron el 45%. Entre los diagnósticos establecidos al momento de obtener los hemocultivos, las neumonías, las infecciones del sitio quirúrgico y las infecciones de vías urinarias, representaron el 39.8%, 13.3% y 12.3%, respectivamente. El 44 % tenía antecedente de hospitalización previa; un 84% portaba catéter vascular y el 25%, sonda vesical. El uso de antibióticos durante la semana previa al hemocultivo fue del 65%; sólo un 12% no recibía antimicrobianos al momento de obtener los hemocultivos. (Tabla 1).

Prevalencia de bacteremias causadas por *Staphylococcus aureus*.

Se incluyeron 1341 casos sugestivos de bacteremia quienes fueron detectados a partir de los hemocultivos remitidos para su estudio. En el 28% de los hemocultivos (376/1341), hubo desarrollo de microorganismos, entre los cuales *Staphylococcus aureus* ocupó el cuarto lugar, con una prevalencia de 1.9%. (Tabla 2). El tener tratamiento sustitutivo de la función renal, hospitalizaciones anteriores, usar un catéter vascular y haber empleado antimicrobianos previamente se asociaron significativamente con bacteremias causadas por *S. aureus*. (Tabla 3).

Resistencia a oxacilina (meticilina) de *S. aureus*. La resistencia a oxacilina se determinó en el 48% y 60% de los aislados, por el sistema automatizado Vitek 2 y por microdilución en agar, respectivamente. (Tabla 4).

Patrón de susceptibilidad a vancomicina. El sistema Vitek 2, detectó dos aislados de *S. aureus* (8%) con CMI de 2 µg/ml. Por microdilución en agar, la CMI

a vancomicina del 80% (20/25) de los estafilococos fue de 2 µg/ml, y en 3 (12%), de 4 µg/ml (Tabla 5).

Susceptibilidad de *S. aureus* a otros antimicrobianos.

La proporción de bacterias resistentes a otros antimicrobianos mediante el sistema Vitek 2, fueron las siguientes: el 80%, a la penicilina G; un 44%, a ciprofloxacino y 48% tanto para clindamicina como para eritromicina. (Tabla 6).

9. DISCUSIÓN.

Aunque las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (EARM) se reportan mundialmente, las bacteremias son de particular relevancia ya que la mortalidad inherente alcanza hasta un 83%.¹²

En este trabajo se determinó la prevalencia de bacteremias causadas por EARM, durante el periodo comprendido de diciembre del 2013 a agosto de 2014, se analizaron posibles factores de riesgo y se evaluó el patrón de susceptibilidad a la vancomicina.

Con relación a la prevalencia, las bacteremias causada por *Staphylococcus aureus* representaron el 1.9 % (25/1341) de los casos estudiados, ocupando el cuarto lugar, después de *E. coli*, estafilococos coagulasa negativos y *Klebsiella spp*, entre los microorganismos desarrollados. Esta información difiere a lo reportado en otros centros, donde la prevalencia de *S. aureus* alcanza hasta el 6%¹⁴ o donde la bacteria ya ocupa el segundo lugar como causa de bacteremias.¹ La resistencia a oxacilina (meticilina) se observó en el 60% de los aislados (15/25), tasa ubicable entre las mayores del rango de 40% a 63%, reportado internacionalmente.^{11,27} Al contrastar la resistencia a meticilina detectada por el sistema automatizado (48%) con la obtenida con el método estándar (60%) se evidencia un subregistro del 12% (error mayor).

En cuanto a la evaluación de los factores de riesgo asociados a las bacteremias causadas por EARM: el tener tratamiento sustitutivo de la función renal, la hospitalización previa, el emplear dispositivos intravasculares y el haber utilizado antimicrobianos previamente, fueron asociados significativamente a las bacteremia. Esto es similar, a lo referido en otros estudios.¹¹

Con respecto al patrón de susceptibilidad a vancomicina se observó que no existe resistencia al glucopéptido; sin embargo, en el 80% de las bacterias (20/25) la CMI fue de 2 µg/ml, y de 4 µg/ml, en el 12% (12/25). Estos dos fenotipos, son de interés clínico, por lo siguiente: en el primero, las bacterias se catalogan como sensibles, pero existen reportes de fracasos terapéuticos al emplear

vancomicina.¹⁶ En el segundo, los microorganismos se clasifican con susceptibilidad intermedia, y representan un grupo con hetero-resistencia potencial. Ésto es, la presencia de subpoblaciones sensibles y resistentes a vancomicina.¹⁹ Al contrastar las CMI a vancomicina determinadas por el sistema automatizado con las encontradas por microdilución, es evidente el subregistro de aislados con CMI de 2 µg/ml, 8% vs 80%, y de los que muestran CMI de 4µg/ml (0% vs 12%). La discrepancia entre los métodos para determinar el incremento en la susceptibilidad a vancomicina, ya es conocido.²⁰

Desde la perspectiva clínico-epidemiológica los datos que aporta este trabajo son trascendentes por lo siguiente:

1. Se demuestra una prevalencia de solo 1.9%, lo que permite inferir una efectividad parcial de las estrategias de vigilancia y control de la infecciones.
2. Los factores de riesgo en la población estudiada son los clásicos reportados en otras comunidades médicas.
3. La resistencia a metilicina en la población de *S. aureus* se observa en 3 de cada 5 aislados de bacteremia.
4. Se avala que no existe resistencia a la vancomicina. Sin embargo, la probabilidad de falla terapéutica se incrementa, dado que la CMI para el 80% de los *S. aureus* estudiados fue de 2 µg/mL y ya existen microorganismos con susceptibilidad intermedia.
5. Se pone de manifiesto que el sistema automatizado subregistra la CMI a vancomicina, lo cual es una limitante para las decisiones terapéuticas en nuestro medio.

En consecuencia, es necesario fortalecer las estrategias de vigilancia y control de las infecciones así como pugnar por un control más estricto del uso de antimicrobianos con la finalidad de abatir la prevalencia de las bacteremias causadas por *S. aureus* resistente a metilicina y limitar la presión selectiva ejercida por la vancomicina.

10. ANEXOS

10.1. CONSERVACIÓN DE LOS AISLADOS.

Los aislados obtenidos se resembraron dos veces: primero, en BHI y después en gelosa sangre, de donde, previa verificación de la pureza, se efectuaron una suspensión densa de microorganismo en tubos que contenían caldo soya tripticaseína con glicerol al 5% (CST-G), los cuales se conservaron a -20°C.

10.2. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES BASE DE OXACILINA Y DE VANCOMICINA.

Se emplearon sales puras (Sigma-Aldrich) de oxacilina sódica monohidratada y de clorhidrato de vancomicina, con potencia de 874 y 900 µg/mg respectivamente, las cuales se conservaron a 4°C, protegidas de la luz y de la humedad.

Se utilizaron las siguientes fórmulas:

1. $\text{Peso} = (\text{Volumen} \times \text{Concentración}) / \text{Potencia (pureza)}$
2. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$.

C1= Concentración del antimicrobiano de la solución base

V1= Volúmen necesario

C2=Concentración intermedia necesaria

V2= Volúmen de la solución intermedia

12.2.1. Solución base de oxacilina, a concentración de 400 µg/mL

1. Sacar la sal de oxacilina del refrigerador y dejar atemperar
2. Pesar la oxacilina en balanza analítica. Considerar:
 - a. Potencia del antibiótico (874 µg/mg)
 - b. Concentración final: 4 µg/mL
3. Hidratar con agua estéril
4. Esterilizar la solución mediante técnica de filtración de membrana

5. Alicuotar la solución de oxacilina en tubos cónicos de 5 mL y congelar a -20°C
- 12.2.2. Solución base de vancomicina a concentración de 1600 $\mu\text{g/mL}$.
1. Sacar la sal de vancomicina del refrigerador y dejar atemperar
 2. Pesar la vancomicina en balanza analítica. Considerar:
 - a. Potencia del antibiótico (900 $\mu\text{g/mg}$)
 - b. Concentraciones intermedias: 0.125 $\mu\text{g/mL}$, 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$ y 32 $\mu\text{g/mL}$
 3. Hidratar con agua estéril
 4. Esterilizar la solución mediante técnica de filtración de membrana
 5. Alicuotar las soluciones y conservar a -20°C

10.3. PREPARACIÓN DE LAS PLACAS DE AGAR DE OXACILINA Y DE VANCOMICINA.

10.3.1. Placas de agar con oxacilina

1. Pesar base de agar Mueller-Hinton
2. Adicionar 2% de NaCl
3. Hidratar con agua destilada
4. Esterilizar con autoclave de vapor
5. Atemperar el medio de $40-45^{\circ}\text{C}$
6. Sacar un tubo cónico de oxacilina del congelador y dejarlo a temperatura ambiente
7. Mezclar perfectamente la solución de oxacilina con el agar
8. Vaciar el medio en placa Petri desechable
9. Dejar solidificar el medio y refrigerar a $4-8^{\circ}\text{C}$

10.3.2. Placas de agar con vancomicina.

1. Pesar base de agar Mueller-Hinton
2. Hidratar con agua destilada
3. Esterilizar con autoclave de vapor
4. Atemperar el medio de $40-45^{\circ}\text{C}$
5. Agregar la solución de vancomicina

6. Mezclar perfectamente
7. Vaciar el medio en caja de Petri desechable
8. Dejar solidificar el medio y refrigerar a 4-8°C

10.4. ACTIVACIÓN DE LOS AISLADOS.

Sacar de congelación un tubo de CST-G y, frente a mechero, con un hisopó estéril se tomará una parte del medio, colocándolo en un tubo con caldo BHI e incubando a 35-37°C, durante 24 h. Al observar desarrollo (turbidez), se efectuará siembra en gelosa sangre y SAID, con las mismas condiciones de incubación. Se verificará crecimiento y pureza bacteriana.

10.5. PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

De una cepa pura con crecimiento de 24h, se tomaron colonias aisladas, para suspender en 3mL de solución salina estéril al 0.45%. La suspensión se ajustó a la turbidez 0.5 de McFarland, de la que se tomaron 100µl o 0.1mL y se colocaron en 0.9 ml de solución salina. Si consideramos que en la escala de McFarland hay 1×10^8 UFC/mL con esta dilución se tiene una concentración de bacterias de 1×10^7 UFC/mL. De esta solución se depositó 1µL en las placas de agar Mueller-Hinton con oxacilina o con vancomicina para que el inóculo final fuese de 10^4 UFC.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Prevalencia de bacteremias por EARM y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.

DATOS CLÍNICOS.

NOMBRE PACIENTE:				
NSS:	SEXO:	EDAD:	CAMA:	FOLIO:
FECHA DE TOMA DE HEMOCULTIVO:				
1				
2				
3				
FECHA DE HOSPITALIZACIÓN:				
DIAGNÓSTICO ACTUAL:				
Infección de vías urinarias				
Neumonía adquirida en la comunidad				
Neumonía nosocomial				
Infección relacionada a catéter				
Infección de piel y tejidos blandos				
Infección de sitio quirúrgico				
Infección de prótesis/material de osteosíntesis				
Otras				
ENFERMEDADES SUBYACENTES:	SI		NO	
Diabetes mellitus				
Hipertensión arterial				
Insuficiencia renal				

Cáncer		
Lupus eritematoso sistémico		
Artritis reumatoide		
Consumo crónico de esteroide (5 mg prednisona x 2 sem)		
Otros		
FACTORES DE RIESGO:	SI	NO
Diálisis peritoneal		
Hemodiálisis		
Cirugía (Último año)		
Hospitalizaciones (Año previo)		
Catéter vascular		
- Fecha de inserción:		
- Fecha de retiro:		
Sonda urinaria		
- Fecha de inserción:		
- Fecha de retiro:		
Tratamiento actual con antibiótico:		
Uso previo de antibiótico (1 semana):		

HEMOCULTIVO

Positivo	Negativo

TEMPERATURA

Eutermia	Fiebre	Hipotermia
36.5°C-37.9°C	>38°C	<36°C

BACTEREMIA

Real	Pseudobacteremia

AIKLADOS

MICROORGANISMO 1	MICROORGANISMO 2
GRAM POSITIVOS	GRAM POSITIVOS
<ul style="list-style-type: none">- <i>S. aureus</i>- CONS- <i>Enterococcus spp.</i>	<ul style="list-style-type: none">- <i>S. aureus</i>- CONS- <i>Enterococcus spp.</i>
GRAM NEGATIVOS	GRAM NEGATIVOS
<ul style="list-style-type: none">- <i>P. aeruginosa</i>- <i>A. baumannii</i>- <i>Klebsiella spp.</i>- <i>Enterobacter spp.</i>- <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none">- <i>P. aeruginosa</i>- <i>A. baumannii</i>- <i>Klebsiella spp.</i>- <i>Enterobacter spp.</i>- <i>E. coli</i>
Hongos	Hongos
<ul style="list-style-type: none">- <i>Candida spp.</i>	<ul style="list-style-type: none">- <i>Candida spp.</i>

CONS: Estafilococo coagulasa negativa

BACTEREMIA POR *S. aureus*

COMUNITARIA	NOSOCOMIAL

Staphylococcus aureus.

VITEK 2 *S aureus*

Antimicrobiano	CMI ($\mu\text{g/mL}$)	Categoría (S,I,R)
Cefoxitina		
Ampicilina-Sulbactam		
Cefazolina		
Ciprofloxacino		
Clindamicina		
Eritromicina		
Gentamicina		
Oxacilina		
Penicilina G		
Rifampicina		
Tetraciclina		
Trimetropim-Sulfametoxazol		
Vancomicina		

Microdilución

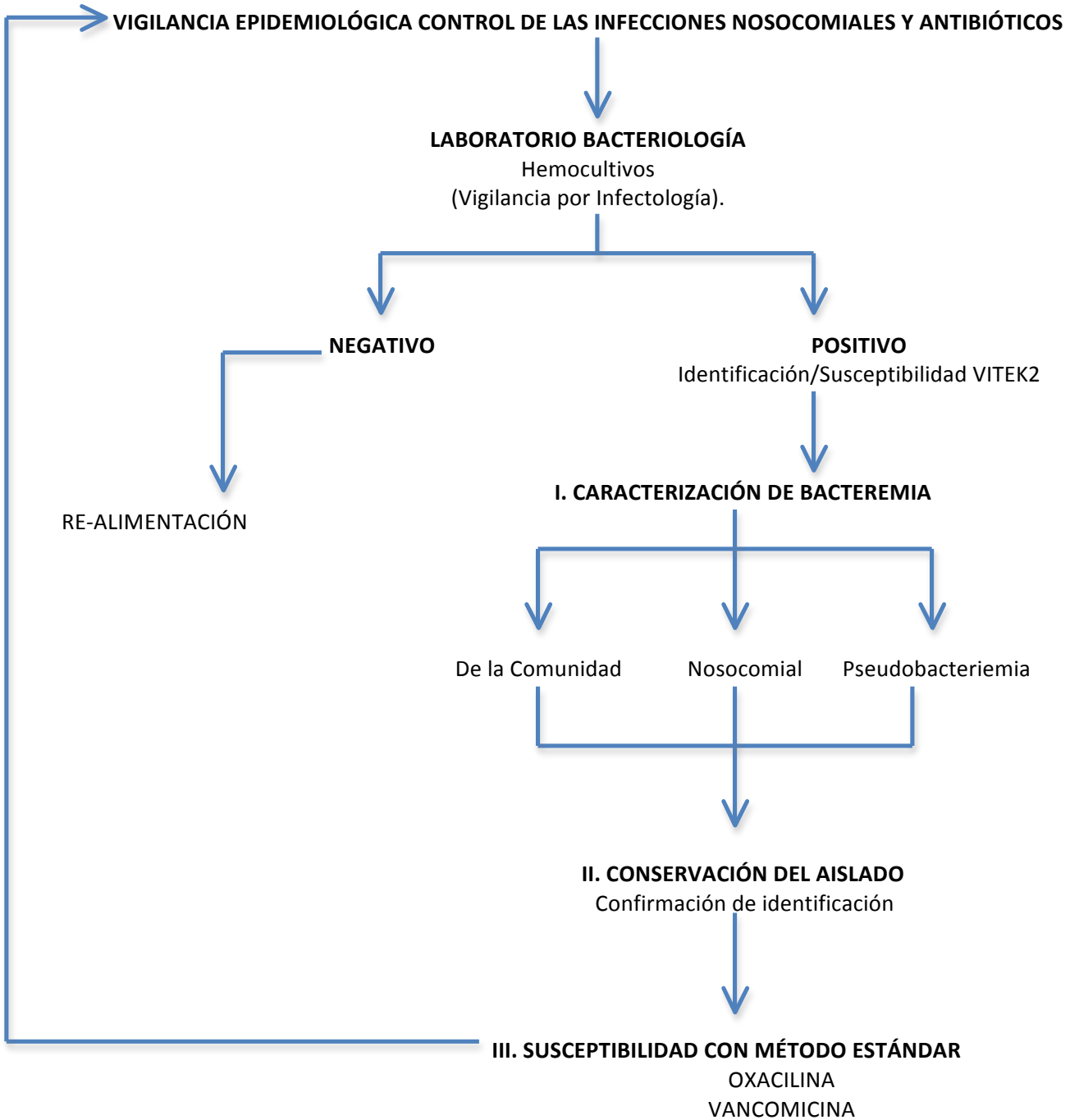
Antimicrobiano	CMI ($\mu\text{g/mL}$)	Categoría (S,I,R)
Oxacilina		
Vancomicina		

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Debido a que el tipo de estudio es descriptivo y que los datos requeridos fueron obtenidos de la información cotidiana de Epidemiología Hospitalaria (no se requirió interacción con el paciente directamente), no fue necesario realizar carta de consentimiento informado, ya que el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en México, artículo 17, menciona que proyectos como el presente, se catalogan sin riesgo. Tampoco se contrapone a los lineamientos de la declaración de Helsinki.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO

Prevalencia de bacteremias por EARM y patrón de susceptibilidad a vancomicina en el Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro Médico Nacional La Raza.



TABLAS

Tabla 1. Características clínico-epidemiológicas de 1341 casos con potencial bacteremia.

Características	n (%)
Edad	
Adultos (≥ 16 años)	1287 (95.7)
Niños (<16 años)	54 (4.3)
Sexo	
Masculino	770 (57.4)
Femenino	571 (42.6)
Diagnóstico actual	
Neumonía nosocomial	359 (26.8)
Infección sitio quirúrgico	178 (13.3)
Neumonía comunitaria	175 (13)
Infección de vías urinarias	165 (12.3)
Infección catéter	120 (8.9)
Infección de piel y tejidos blandos	26 (1.9)
Otros [ⓐ]	318 (23.7)
Comorbilidades	
Cáncer hematológico	406 (30.3)
Diabetes mellitus	197 (14.7)
Hipertensión arterial	113 (8.4)
Insuficiencia renal	110 (8.2)
Lupus eritematoso sistémico	35 (2.5)
Otros [ⓑ]	286 (21.3)
Tratamiento sustitutivo renal	
Díálisis	14 (1)
Hemodiálisis	103 (7.7)
Hospitalizaciones previas (último año)	595 (44.4)
Cirugías anteriores (último año)	272 (20.3)
Catéter vascular	1128 (84.1)
Sonda urinaria vesical	336 (25.1)
Uso previo de antibiótico (1 semana antes)	879 (66.5)
Uso actual de antibiótico	1190 (88.7)

ⓐUnidad de cuidados intensivos, Cardiología, Gastroenterología, Cirugía de tórax. ⓑInfección articular/prótesis. Endocarditis. ⓐUso crónico de esteroides (prednisona 5mg/día x 2 semanas). Artritis Reumatoide.

Tabla 2. Características de los hemocultivos y prevalencia de los microorganismos desarrollados durante diciembre 2013 a agosto del 2014.

Variable	n (%)
Registro de fiebre al momento de la obtención del espécimen	1208/1341 (90.1)
Hemocultivos con desarrollo	376/1341 (28)
Microorganismos identificados	
<i>Escherichia coli</i>	99 (7.4)
Estafilococos coagulasa negativos	87 (6.5)
<i>Klebsiella spp</i>	27 (2.0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25 (1.9)
<i>Candida spp</i>	23 (1.7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19 (1.4)
<i>Enterococcus spp</i>	17 (1.3)
<i>Acinetobacter spp</i>	13 (1.0)
<i>Enterobacter spp</i>	12 (0.9)
Otros[•]	54 (4.0)
Total	376 (100)

©*Achromobacter xylosoxidans*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus spp*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus haemolyticus*, *Kocuria kristinae*, *Rhizobium radiobacter*, *Acromonas salmonicida*, *Pseudomonas putida*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundii*, *Micrococcus spp*, *Streptococcus grupo viridans*, *Stenotrophomonas maltophilia*

Tabla 3. Factores asociados con bacteremia causada por *Staphylococcus aureus* en 25 casos durante diciembre de 2013 a agosto del 2014.

Variable	No	RMP	IC 95%	p ^a
Sexo				
Masculino	13	0.68	0.30-1.50	0.41
Femenino	12			
Dialisis Peritoneal				
Si	2			
No	23	9.44	2.0-44.6	0.02
Hemodiálisis				
Si	11			
No	14	10.4	4.61-23.6	0.001
Cirugía último año				
Si	4			
No	21	0.74	0.25-2.18	0.80
Hospitalizaciones previas (último año)				
Si	17	2.71	1.16-6.33	0.02
No	8			
Catéter vascular				
Si	25	0.97	0.97-0.98	0.02
No	0			
Sonda urinaria vesical				
Si	7			
No	18	1.16	0.48-2.81	0.81
Uso actual de antibiótico				
Si	25	0.97	0.97-0.98	0.12
No	0			
Uso previo de antibiótico (última semana)				
Si	24	12.9	1.7-95.9	0.001
No	1			

^a Prueba exacta de Fisher. RMP. Razón de momios de prevalencia.

Tabla 4. Comparación de las tasas de resistencia a oxacilina de 25 aislados de *Staphylococcus aureus* determinadas por el sistema automatizado y por microdilución en agar.

	Vitek 2 n (%)	Microdilución en agar n (%)
Resistentes	12 (48)	15 (60)
Susceptibles	13 (52)	10 (40)
Total	25 (100)	25 (100)

Tabla 5. Comparación de las concentraciones mínimas inhibitoria (CMI) a vancomicina de 25 aislados de *Staphylococcus aureus* determinadas por el sistema automatizado y por microdilución en agar.

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Vitek 2 n (%)	Microdilución en agar n (%)
0.25	-	1 (4)
0.50	12 (48)	-
1	11 (44)	1 (4)
2	2 (8)	20 (80)
4	-	3 (12)
Total	25 (100)	25 (100)

Tabla 6. Patrón de susceptibilidad antimicrobiana de 25 aislados de *Staphylococcus aureus* por el método automatizado Vitek2

Antibiótico	Susceptible	Resistente
Cefoxitina^o	13 (-)	12 (+)
Oxacilina	13 (52)	12 (48)
Penicilina G	5 (20)	20 (80)
Ciprofloxacino	14 (56)	11 (44)
Clindamicina	13 (52)	12 (48)
Eritromicina	13 (52)	12 (48)
Gentamicina	25 (100)	0
Rifampicina	25 (100)	0
TMP-SMX	25 (100)	0
Vancomicina	25 (100)	0

^o Prueba de susceptibilidad por método automatizado reportado de manera cualitativa.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Gutiérrez-Cárdenas M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed 2006; 17: 285-305.
2. Corey RG. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: definitions and treatment. Clin Infect Dis 2009; 48 suppl 4:254-259.
3. Murray PR, Rosenthal Ks, Pfaller MA. *Staphylococcus* y cocos grampositivos relacionados. En: Microbiología médica. 6a Edición. Elsevier México 2009; 209-223.
4. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis 2008; 46 suppl 5: 350-359.
5. Xia J, Gao J, Kokudo N, Hasegawa K, Tang W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence. Biosci Trends 2013; 7: 113-121.
6. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbiol Rev 1987; 51: 88-134.
7. Malachowa N, DeLeo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. CellMol Life Sci 2010; 67: 3057-3071.
8. Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2007; 45 suppl 3: 165-170.

9. Watkins RR, David MZ, Salata RA. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol 2012; 61: 1179-1193.
10. Cauda R; Garau J. New insights concerning methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. Clin Microbiol Infect 2009; 15: 109-111.
11. Guzmán-Blanco M, Mejía C, Isturiz R, Alvarez C, Bavestrello L, Gotuzzo E, et al. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. Int J Antimicrob Agents 2009; 34: 304-308.
12. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich NE, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteriemia: A meta-analysis. Clin Infect Dis 2003; 36: 53-59.
13. Tiemersma EW, Bronzwaer S, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. Emerg Infect Dis 2004.10:1627-1634.
14. Ayala-Gaytán J, Alemán-Bocanegra MC, Guajardo-Lara CE, Rivera-Cerda NA. Bacteremias: incidencia y resistencia antimicrobiana. Tendencia a través de dos décadas de seguimiento. Rev Avances 2010; 23: 4-11.
15. Stryjewski ME, Corey GR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolving pathogen. Clin Infect Dis 2014; 58 suppl 1: 10-19.
16. Chatterjee SS, Otto M. Improved understanding of factors driving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic waves. Clin Epidemiol 2013; 5: 205-217.

17. Koskinen JO, Stenholm T, Vaarno J, Soukka J, Meltola NJ, Soini AE. Development of rapid assay methodology for antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62: 306-316.
18. Gupta H, McKinnon N, Louie L, Louie M, Simor A. Comparison of six rapid agglutination tests for the identification of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant strains. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 31:333-336.
19. Pillai SK, Wennersten C, Venkataraman L, Eliopoulos GM, Moellering RC, Karchmer AW. Development of reduced vancomycin susceptibility in methicillin susceptible *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2009; 49:1169-1174.
20. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:99-139.
21. Swenson JM, Lonsway D, McAllister S, Thompson A, Jevitt L, Zhu W, Patel JB. Detection of *mecA*-mediated resistance using reference and commercial testing methods in a collection of *Staphylococcus aureus* expressing borderline oxacillin MICs. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 58:33-39.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. Document M100-S16. CLSI Wayne, PA, USA, 2006.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement. Document M100-S18. CLSI Wayne, PA, USA, 2008.

24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-four informational supplement. Document M100-S24. CLSI Wayne, PA USA, 2014.