

302827

UNIVERSIDAD MOTOLINIA A.C. N:1



ESCUELA DE QUIMICA
con estudios incorporados a la U.N.A.M.

2Ej.

"CORRELACION CLINICO - EPIDEMIOLOGICA DE
ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVA
AISLADOS DE HEMOCULTIVOS: SUSCEPTIBILIDAD,
BIOTIPO Y PRODUCCION DE SLIME."

T E S I S

Que para obtener el Título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

VIRGINIA ALMONACID MONDRAGON

México, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo lo dedico

A Dios

***por haberme dado el Don de la Vida, y permitirme ser
instrumento suyo para servirlo en los demás.***

A mis papás

Manuel Almonacid S.

Sara Mondragón G.

***Quienes con su ejemplo de superación, entrega y
dedicación, me guiaron por el camino de la Verdad.
Por su gran amor, Gracias.***

A mis hermanos

**María, Mónica, Wenceslao, Rodrigo, Saray y Benjamín
por su gran apoyo y comprensión.**

Con amor

**a Emmanuel y María Luisa que con su cariño y alegría
llenan cada momento de mi vida.**

A Adrián

**por hacer cada momento especial, por tu apoyo
incondicional y tu gran amor, Gracias.**

A la Q.F.B. Ma. Rosario Vázquez Larios

por su valiosa colaboración en la realización del presente trabajo, y por su dedicación en mi formación profesional.

Con admiración al M.C.M. Dr. Eduardo Rivera Martínez

mi más sincero agradecimiento por compartir conmigo sus invaluable conocimientos.

Al Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" y a todos mis compañeros del laboratorio de Microbiología por la oportunidad de realizar el presente trabajo, y formar parte de ellos.

***El presente trabajo se realizó bajo la tutoría del
M.C.M. Eduardo Rivera Martínez y la asesoría de la Q.F.B.
Rosario Vázquez Larios en el Laboratorio de Microbiología del
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".***

INDICE

CAPITULO I INTRODUCCION

1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivos	1
1.3. Hipótesis	2

CAPITULO II ANTECEDENTES

2.1. Características generales de los estafilococos coagulasa negativos	3
2.1.1. Características generales	3
2.1.2. Factores de virulencia	4
2.1.3. Especies más importantes	6
2.1.4. Sistemas de tipificación epidemiológica	7
2.2. Susceptibilidad antimicrobiana	8
2.3. Generalidades de bacteriemias	10
2.3.1 Clasificación de bacteriemias	11
2.3.2 Métodos de diagnóstico	11

CAPITULO III PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Diagrama	14
3.2. Material	15
3.2.1. Material biológico	15
3.2.2. Material de laboratorio	15
3.2.3. Reactivos	15
3.2.4. Medios de cultivo	15
3.2.5. Agentes antimicrobianos	16
3.2.6. Sistemas comerciales	16
3.2.7. Preparación de reactivos	17
3.3. Metodología	17
3.3.1. Datos epidemiológicos	17
3.3.2. Identificación de los estafilococos coagulasa negativos	17
3.3.3. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	18
3.3.4. Producción de slime	18

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1. Resultados	19
4.2. Discusión	27
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFIA	33

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Hasta hace algunos años dentro del género de los estafilococos, se consideraba como la única especie patógena *Staphylococcus aureus*; sin embargo, en los últimos años se ha puesto de manifiesto el papel patógeno que pueden tener las especies de estafilococos coagulasa negativos, considerados anteriormente como simples colonizadores (1,13).

Los estudios realizados confirman que los estafilococos coagulasa negativos causan graves infecciones, sobre todo en pacientes en quienes se han instalado sondas, catéteres, cánulas e incluso prótesis cardíacas o articulares (8,13,18,30,32).

En las bacteriemias los estafilococos coagulasa negativos, se les ha aislado en un 74% a 92%, atribuyéndosele la relevancia de dichas cifras a su constante relación con catéteres intravenosos instalados en las quimioterapias (1,27).

Por lo anteriormente expuesto y que en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" las bacteriemias intrahospitalarias son causadas principalmente por bacterias grampositivas, ocupando el tercer lugar de éstos los estafilococos coagulasa negativos (35); se decidió investigar la importancia clínica de estas cepas aisladas de bacteriemias, incluyendo su caracterización microbiológica y epidemiológica.

1.2. OBJETIVOS.

- Determinar la prevalencia de estafilococos coagulasa negativos y sus diferentes especies, así como biotipos asociados a bacteriemias.
- Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con bacteriemia por estafilococos coagulasa negativos.
- Describir el perfil de susceptibilidad de estafilococos coagulasa negativos en el INCICH.
- Determinar los biotipos de las cepas de ECN productoras de slime y su perfil de susceptibilidad.

1.3. HIPOTESIS.

- La prevalencia de estafilococos coagulasa negativos en bacteriemias en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INCICH) es semejante a la informada por otros autores en hospitales de tercer nivel en México y en otros países.
- La especie de mayor incidencia es *Staphylococcus epidermidis*.
- El patrón de resistencia de estafilococos coagulasa negativos en el INCICH es similar a la informada en la literatura hacia la mayoría de los antibióticos.
- Las cepas de estafilococos coagulasa negativos (ECN) aisladas en bacteriemias son frecuentemente productoras de slime y estan asociadas a virulencia.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

2.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS.

2.1.1. Características generales.

El género *Staphylococcus* es miembro de la familia Micrococaceae, su habitat natural es en la superficie de primates y otros mamíferos (1,18,25,27).

Cuando los estafilococos se tiñen mediante la técnica de Gram, las células retienen el cristal violeta y al microscopio aparecen como esférulas azules, se agrupan generalmente en racimos (Staphylo, racimo de uvas) (1,4,25,27) pero las células muy envejecidas pueden perder la capacidad de retener el cristal violeta y por lo tanto, se decoloran más fácilmente que las células más jóvenes (14).

Los estafilococos son cocos grampositivos de 0.5 - 1.5 μ m de diámetro, inmóviles, anaerobios facultativos, catalasa positivos, que se desarrollan en medios que contienen cloruro de sodio al 10% (4,16,27).

El principal componente estructural de la pared celular de los estafilococos es la capa de peptidoglucano, que se compone de cadenas de glucano entrelazadas con el péptido. Los ácidos teicoicos, componentes también de la pared celular, son polisacáridos complejos (ácido glicerolteicoico con residuos glucosídicos) que contienen fosfato y se une tanto a la capa de peptidoglucano, como a la membrana citoplasmática (27,31).

Otra de las características fundamentales de los estafilococos y de importancia especial es el contenido elevado de glucopéptidos y el menor contenido lipídico de sus paredes celulares. Los alcoholes y otros solventes orgánicos no penetran a las paredes celulares deficientes en lípidos de las células grampositivas; esto permite que los microorganismos retengan el color cristal violeta en la tinción de gram y también los ayuda a resistir la acción germicida de jabones tensioactivos y detergentes.

La composición de la pared celular permite que las penicilinas y cefalosporinas que ejercen sus efectos antimicrobianos inhibiendo la síntesis de la pared celular, sean más efectivos contra éstas (25).

En un cultivo de estafilococos las colonias presentan las siguientes características: son grandes (2 a 3 mm a las 24 horas), convexas, opacas, redondas y lisas, con frecuencia pigmentadas, y de consistencia cremosa. Las colonias pueden ser emulsificadas fácilmente en agua, dando una suspensión homogénea, las especies de estafilococos coagulasa negativos raramente son pigmentadas y generalmente no hemolíticos (1,14,25).

Los estafilococos se desarrollan en medios de aislamientos no selectivos convencionales, especialmente en agar sangre (25) y en presencia de concentraciones altas de cloruro de sodio (7.5 a 10%) (21) y son inhibidos por medios selectivos como agar MacConkey y agar Salmonella y Shigella que contienen sales biliares (25).

2.1.2. Factores de virulencia.

a) Producción de slime.

Estudios recientes han demostrado, la capacidad que presentan los estafilococos coagulasa negativos para producir una sustancia mucoide, de naturaleza polisacárida, (slime) que facilita la adherencia de éstos a superficies rugosas, como catéteres, prótesis cardíacas y articulares (7,8,32).

El slime es un polisacárido extracelular, compuesto de una gran cantidad de polímeros de alto y bajo peso molecular, unidos por interacciones iónicas directas. En general, los exopolisacáridos están formados por monosacáridos neutros tales como D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, L-fructosa y L-ramnosa y contienen aminoazúcares, ácido urónico y polioles (ribitol y glicerol) (20).

Recientemente se ha estudiado el mecanismo por el cual los estafilococos se adhieren, colonizan y persisten en los biomateriales; y en el cual, el slime juega un papel muy importante (7,10).

Este mecanismo comprende los siguientes pasos:

1) La unión reversible entre el estafilococo coagulasa negativo y el biomaterial, que se lleva a cabo por las interacciones hidrofóbicas entre las proteínas de la pared celular bacteriana y la superficie del biopolímero.

Estas fuerzas vencen a las fuerzas repulsivas relativamente débiles, las cuales operan entre las superficies que están cargadas negativamente.

2) La producción de slime por los estafilococos coagulasa negativos, interviene significativamente en la segunda etapa, la cual es una unión irreversible que culmina con la formación de microcolonias que se adhieren firmemente a la superficie del polímero (10).

Esta sustancia slime juega un papel muy importante en las infecciones relacionadas a biomateriales, ya que favorece la persistencia de las infecciones, así como la colonización de catéteres, puesto que este fenómeno está asociado a mayor virulencia y resistencia antimicrobiana (7,8,10).

El slime también actúa estimulando la liberación de lactoferrina de los gránulos de los neutrófilos, esta desgranulación compromete la capacidad de los neutrófilos para eliminar a los estafilococos coagulasa negativos asociados a los biomateriales.

Este glicocálix puede interferir con la actividad de los linfocitos. Por ejemplo, se ha reportado que el slime inhibe la blastogénesis de las células T y B, así como la producción de inmunoglobulinas (19).

Esta propiedad de los estafilococos coagulasa negativos se ha referido principalmente a *Staphylococcus epidermidis*; sin embargo, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis* y *S. warneri* también la poseen (3,7,17).

b) **Enterotoxinas:** Se han descrito cinco enterotoxinas serológicamente diferentes (A a E), que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas gástricas y que son estables a una temperatura de 100°C. Las enterotoxinas estafilocócicas estimulan

el peristaltismo intestinal y ejercen un efecto sobre el Sistema Nervioso Central, que se manifiesta por los intensos vómitos que acompañan a la enfermedad gastrointestinal (31).

c) Enzimas estafilocócicas:

Los estafilococos coagulasa negativos presentan las siguientes enzimas: catalasa, lipasa y penicilinasas.

1) Catalasa. Todos los estafilococos coagulasa negativos producen catalasa, enzima que cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno; y protege a los microorganismos del peróxido de hidrógeno tóxico que se acumula durante el metabolismo bacteriano y es liberado después de la fagocitosis.

2) Lipasas. Más del 30 % de los estafilococos coagulasa negativos producen diversas lipasas, que hidrolizan los lípidos esenciales para la supervivencia de los estafilococos en las áreas sebáceas del organismo. Se cree que estas enzimas son necesarias para la invasión del tejido cutáneo y subcutáneo, y producir las infecciones cutáneas superficiales (31).

2.1.3. Especies más importantes.

Las 19 especies de estafilococos coagulasa negativos que habitualmente se describen en el Manual de Bergey, se subdividen en 4 grupos según el análisis de hibridación de ADN-ADN: que son el grupo de *S. epidermidis*, el grupo de *S. saprophyticus*, el grupo de *S. simulans* y el grupo de *S. sciuri* (9).

De todas las especies de estafilococos coagulasa negativos, *S. epidermidis* parece ser el más importante debido a su gran potencial patogénico (13,27,30,32).

S. haemolyticus es la segunda especie de estafilococos coagulasa negativos que con más frecuencia se aísla de infecciones y está relacionada con endocarditis de válvula nativa.

S. lugdunensis y *S. schleiferi* se consideran dos especies nuevas de estafilococo coagulasa negativos que aparecen como oportunistas muy importantes ya que contaminan los materiales de implantación, los catéteres y las sondas (1).

S. saprophyticus se le considera el segundo agente causal de

infecciones del tracto urinario en los jóvenes, principalmente en las mujeres sexualmente activas (1,27,33).

Otras especies de estafilococos tales como *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. saccharolyticus*, *S. capitis* y *S. xylosus* aparecen con baja frecuencia en diversas infecciones humanas (1).

2.1.4. Sistemas de tipificación epidemiológica.

Para fines epidemiológicos, es necesario diferenciar las distintas cepas de estafilococos coagulasa negativos en tipos o grupos. La tipificación se utiliza generalmente para investigar la fuente de un brote nosocomial (1).

Existen diversas técnicas, pero las más utilizadas son: la tipificación serológica, la tipificación biológica, los perfiles de sensibilidad antimicrobiana, la fagotipificación y los métodos de tipificación de DNA (1,18).

La tipificación serológica, basada en la determinación de la presencia o ausencia de anticuerpos o ácido teicoico de la pared celular del estafilococo, presenta dificultades para preparar los antisueros específicos y estandarizar los métodos, por lo cual la utilización está limitada (1).

La biotipificación incluye varias pruebas de asimilación de sustratos, las cuales puede realizarse por métodos convencionales o sistemas comerciales y se utilizan principalmente en estudios taxonómicos para diferenciar especies mediante biotipos (14).

El antibiograma puede aplicarse para estudios epidemiológicos, aplicando los procedimientos estandarizados ya establecidos. La aparición de cepas de estafilococos con un patrón de sensibilidad único puede ser un dato importante para el microbiólogo clínico y puede proveer un marcador porque se pueden detectar cepas similares (1,7,32).

El sistema más establecido para la tipificación epidemiológica es la tipificación de bacteriófagos. Desde 1952 se estableció un sistema internacional para estandarizar los procedimientos y los bacteriófagos. Sin embargo, no es un

sistema estático, porque debe adaptarse a la aparición de cepas nuevas de estafilococos que no sean tipificables (1).

Los métodos de tipificación de DNA, están muy limitados debido a que están muy por debajo del alcance de la mayoría de los laboratorios de microbiología; sin embargo, pueden ser métodos muy prometedores para la identificación de cepas o poblaciones clonales (14).

2.2. SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

Durante los años cincuenta, las infecciones estafilocócicas eran tratadas con penicilina; sin embargo esta terapia se volvió ineficaz por la aparición de cepas resistentes a este antibiótico debido a la producción de una enzima llamada β -lactamasa que inactiva las penicilinas (5).

La resistencia está mediada por la producción de penicilinas (β -lactamasa); que hidroliza el anillo β -lactámico de la penicilina. La información genética, que codifica la producción de esta enzima, se transmite por plásmidos transmisibles, que facilitan la rápida diseminación de la resistencia entre los estafilococos (27).

En general, estafilococos coagulasa negativos son ubicuos y tienen la capacidad de acumular resistencia antibiótica, la cual puede ser transmisible a especies más agresivas y puede ser extendida con el contacto de pacientes en el hospital (18).

En 1959, se introdujo la comercialización de la meticilina, la primera penicilina semisintética resistente a la penicilinas; y esta ofreció una solución a este problema terapéutico; sin embargo, en 1960 se detectó el primer brote de estafilococo resistente a meticilina en Inglaterra (5).

Posteriormente, los estafilococos resistentes se convirtieron en una causa importante de infecciones nosocomiales en el mundo.

En México, la existencia de estafilococo resistente a meticilina es un problema real, que afecta principalmente a los hospitales de tercer nivel, en donde se ha detectado desde 1981 (36).

La resistencia a meticilina es más común en estafilococos coagulasa negativos; éstos se consideran también resistentes a todas las penicilinas. La resistencia a penicilina es mediada por un plásmido productor de penicilinasas, sin embargo, la resistencia a meticilina es independiente de la producción de β -lactamasas.

En *S. aureus* la localización de determinantes de resistencia a meticilina, se cree que sea cromosomal, es decir, se basa en la capacidad del cromosoma, pero no del plásmido, la transferencia de resistencia es mediada por el DNA.

Las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina, tienen una proteína ligadora de la penicilina con menor afinidad para meticilina, en comparación a cepas sensibles. Fenómenos similares se presentan en cepas de *S. epidermidis* resistentes a meticilina, pero aún no ha sido probado. Fenotípicamente cepas de *S. epidermidis* resistentes a meticilina son heterorresistentes (27).

La gran resistencia cruzada mostrada por *S. epidermidis* existentes a meticilina causa confusión, las pruebas de susceptibilidad muestran que cepas de *S. epidermidis* resistentes a meticilina son sensibles a cefalotina, cuando en realidad, la resistencia cruzada es casi completa (27).

Los estafilococos coagulasa negativos pueden ser susceptibles in vitro a cefalosporinas de primera generación, aunque para fines de tratamiento, se les considera resistentes (14). Para fines clínicos, todas las cepas de *S. epidermidis* resistentes a meticilina, deben ser consideradas resistentes a todos los β -lactámicos (27).

La sensibilidad antimicrobiana de los estafilococos coagulasa negativos se determina principalmente a vancomicina, rifampicina y cotrimoxazol, aunque el más efectivo es vancomicina (13).

Aunque la mayoría de estos microorganismos son multiresistentes y se ha observado que *Staphylococcus epidermidis* es la especie más resistente a casi la mayoría de los antibióticos (1,6,13). La resistencia de estafilococo coagulasa negativos se caracteriza por el fenómeno de plásmidos.

El cambio de plásmidos de resistencia antibiótica entre

estafilococos coagulasa negativos y estafilococos coagulasa positiva es ahora bien conocido. Naidoo ha demostrado que 12 de 35 estafilococos coagulasa negativos resistentes a gentamicina, epidemiológicamente independientes, pueden transferir aparentemente los plásmidos conjugados a *S. aureus*. De todas, seis cepas de *S. hominis*; cuatro de veinte *S. epidermidis*; dos de seis *S. haemolyticus*; pero ninguna de tres *S. saprophyticus*, pueden transferir genes.

El mecanismo conjugativo de estos plásmidos es desconocido pero requiere del contacto célula-célula y es independiente de iones calcio o la presencia de DNasa; la actividad de bacteriófagos no ha sido demostrada. En el sistema estudiado en detalle estos plásmidos son capaces de movilizar otros plásmidos de resistencia, éstos existen como plásmidos distintos en ambas cepas donadora y receptora (18).

2.3. GENERALIDADES DE BACTERIEMIAS.

La bacteriemia constituye una de las situaciones más graves en una enfermedad infecciosa ya sea en forma transitoria o permanente, porque además de los problemas derivados de la diseminación de la infección y de afectar el funcionamiento de algunas prótesis, como válvulas cardíacas pueden causar graves inconvenientes, entre ellos shock, coagulación intravascular diseminada (CID) y muerte.

Una bacteriemia se define como la presencia de bacterias en la sangre, y puede indicar la existencia de un foco infeccioso como una neumonía o un absceso hepático, o simplemente puede presentar la liberación transitoria de bacterias a la sangre (14).

2.3.1. Clasificación de bacteriemias.

Las bacteriemias se clasifican en tres tipos:

- **Bacteriemia transitoria:** es la entrada breve y rápida de bacterias al torrente sanguíneo por un evento traumático menor. El número de microorganismos es mínimo, por lo general menor de 30 microorganismos por mililitro de sangre y son eliminados por el

sistema inmunológico del huésped.

- **Bacteriemia intermitente:** se encuentra asociada a procesos infecciosos, por ejemplo abscesos y ésta se caracteriza por episodios de fiebre y escalofrío, los microorganismos se encuentran en sangre y posteriormente son eliminados por el sistema retículo endotelial o se sitúan en otro órgano.

- **Bacteriemia continua:** se presenta en el caso de infecciones intravasculares tales como endocarditis, en infecciones severas no controladas, y en la fase aguda de infecciones del sistema retículo endotelial; en este tipo de bacteriemias, los microorganismos se encuentran presentes en forma continua en el torrente sanguíneo (2).

2.3.2. Métodos de diagnóstico.

La detección e identificación rápida de los agentes etiológicos de las bacteriemias, es una de las funciones más importantes del laboratorio de microbiología (14).

Para realizar la toma de hemocultivos en forma adecuada es necesario tener en cuenta los siguientes factores:

a) Secuencia y volumen de las muestras de sangre.

Cuando las bacteriemias son continuas los hemocultivos se toman a diferentes intervalos de tiempo. El factor determinante es la urgencia clínica de la situación y la necesidad de tomar las muestras antes de iniciar el tratamiento.

En caso de bacteriemia intermitente la toma del hemocultivo puede ser espaciada a intervalos de tiempo.

Para la evaluación inicial de fiebre de origen desconocido se toman tres muestras de 10 ml cada una en un día y otras tres al siguiente día (2).

La probabilidad de aislar un microorganismo aumenta proporcionalmente con el volumen de sangre tomada. En los niños, sobre todo en lactantes, no se deben tomar muestras grandes; los lactantes con bacteriemia tienen un número elevado de bacterias por mililitro de sangre, por lo que se necesitan sólo de 1 a 5 ml para un hemocultivo (14). En los adultos de 8 a 10 ml de sangre es

suficiente para el cultivo (2).

Un factor importante que debe tenerse en cuenta es la dilución de la sangre en el medio, se ha encontrado que la relación 1:10 (1:5 como mínimo) de sangre en el medio es la más conveniente. Se recomienda el uso de dos botellas para hemocultivo, una aerobia y otra anaerobia, para una recuperación óptima de microorganismos (14).

b) Medios de cultivo y aditivos:

Los medios en los que se inocula la sangre son caldos enriquecidos, que favorecen incluso el desarrollo de una sola bacteria, por lo cual es importante reducir el riesgo de contaminación mediante una preparación cuidadosa de la piel.

El medio básico para hemocultivos requiere como medios mínimos el caldo nutritivo y el anticoagulante. La mayoría de los hemocultivos comerciales contienen un digerido pancreático de soya, infusión cerebro corazón, peptona suplementada o tioglicolato. El desarrollo de bacterias que carecen de pared celular se favorece mediante el uso de estabilizadores osmóticos como sacarosa, manitol o sorbosa para crear un medio hiperosmótico (hipertónico).

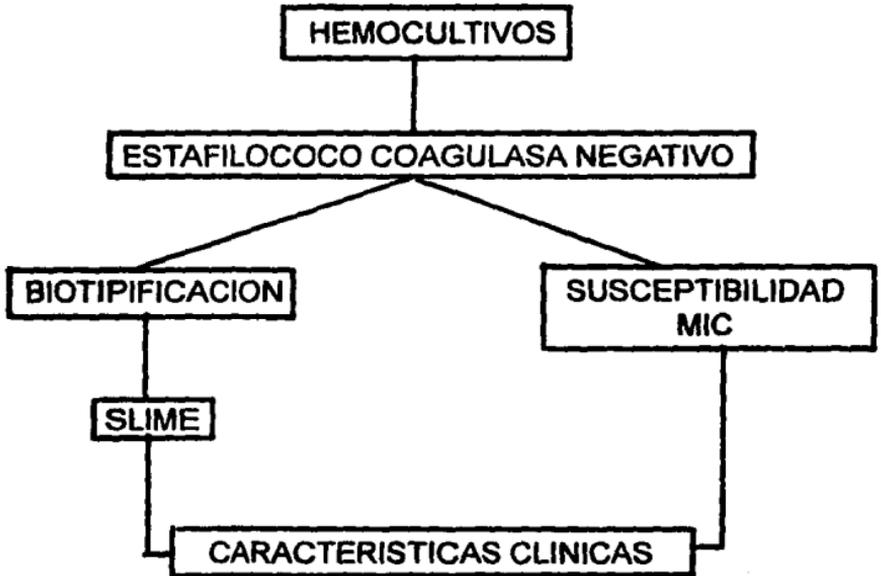
El anticoagulante presente en el medio no debe actuar como inhibidor de las bacterias y debe evitar la coagulación de la sangre, el más usado es el polianetol sulfonato de sodio al 0.025% - 0.03%.

El aislamiento de microorganismos de hemocultivos de pacientes que reciben terapia antibiótica es más rápida y efectiva cuando la sangre es inoculada en los sistemas que contienen resinas, estas sustancias eliminan por lo menos 25 agentes antimicrobianos de la sangre (14).

CAPITULO III

**CAPITULO III
PARTE EXPERIMENTAL**

3.1 Diagrama de flujo.



3.2. MATERIAL.

3.2.1. Material biológico.

-Se utilizaron 60 cepas de estafilococos coagulasa negativos, provenientes de hemocultivos correspondientes al periodo de enero de 1992 a diciembre de 1993, de 57 pacientes del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", dichas cepas fueron almacenadas en papel filtro con solución citrato-glicerol al 20% a -70°C.

- Cepas control:

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Staphylococcus epidermidis ATCC 35983 slime positivo

Staphylococcus epidermidis ATCC 35984 slime negativo

3.2.2. Material de laboratorio.

- Tubos de vidrio pyrex (13 x 100).
- Cajas de petri pyrex.
- Pipeta multicanal de 50 -µl UNISCEPT PLUS
- Espejo concavo de lectura.
- Bactec NR-730 Becton-Dickinson
- Microscopio Karl-Zeiss
- Incubadora Heraeus
- Incubadora de CO₂ .Heraeus.

3.2.3. Reactivos.

- Safranina. Sigma
- Reactivo de cinnamaldehído. Analytab products.
- Reactivo azul rápido. Analytab products.

3.2.4. Medios de cultivo.

- | | |
|---------------------------------|--------|
| - Base de agar sangre. | BIOXON |
| - Agar de MacConkey | BIOXON |
| - Base de agar GC y Hemoglobina | BIOXON |

3.2.5. Agentes antimicrobianos.

ANTIBIOTICO	CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)
Amikacina	32
Amoxicilina/ac. clavulánico	16/8
Ampicilina	16
Ampicilina/sulbactam	16/8
Aztreonam	16
Cefazolin	16
Cefoperazona	32
Cefotaxima	32
Cefoxitin	16
Ceftazidime	16
Ceftriaxona	32
Cefuroxime	16
Cefalotina	16
Ciprofloxacina	4
Clindamicina	4
Eritromicina	4
Gentamicina	8
Imipenem	8
Mezlocilina	128
Norfloxacin	16
Oxacilina	4
Penicilina	8
Piperacilina	128
Ticarcilina/ac. clavulánico	128/2
Cotrimoxazol	8/152
Tobramicina	8
Vancomicina	16

3.2.6. Sistemas comerciales: Paneles de identificación y sensibilidad:

a) PANEL MIC UNISCEPT MIC/TYPE 3. Analytab products

b) PANEL API UNISCEPT 20 GP. Analytab products. El panel contiene

los siguientes sustratos: fosfatasa, utilización de la urea, β -glucosidasa, manosa, manitol (utilización), trehalosa, salicin, β -glucuronidasa, arginina (utilización), β -galactosidasa, ácido piroglutámico arilamidasa, bilis esculina, arginina (hidrólisis), β -galactosidasa, arabinosa, sorbosa, rafinosa, sorbitol, glicerol y manitol (fermentación).

3.2.7. Preparación de reactivos.

- Solución madre de safranina: Disolver 2.5 gr de safranina en 100 ml de etanol 95%

-Solución de trabajo: Hacer una dilución 1:10 de la solución stock en agua destilada.

3.3. METODOLOGIA.

3.3.1. Datos epidemiológicos.

Se realizó una revisión de los expedientes de cada paciente que presentaron hemocultivos positivos a estafilococos coagulasa negativos durante el periodo antes descrito; considerando los datos siguientes: número de tomas realizadas, número de hemocultivos positivos, síntomas clínicos, bacteremia real considerando esta como el aislamiento del mismo microorganismo en al menos dos hemocultivos o el mismo microorganismo en un hemocultivo y en la muestra obtenida del sitio de origen de la bacteriemia. (35) Se consideró bacteriemia nosocomial, a aquella adquirida después de 48 horas de hospitalización.

3.3.2. Identificación de los ECN.

Realizar la identificación de ECN por el método de tipificación y microsistema.

- Método comercial API.

-Preparación del inóculo: Con un hisopo, tomar varias colonias morfológicamente similares, de un cultivo de 18 a 24 horas; suspender las colonias en 5 mililitros de solución salina estéril al 0.85% o agua destilada estéril.

Estandarizar la suspensión resultante a un equivalente de 0.5 Mac-Farland y preparar una dilución 1:100 del inóculo, con una pipeta estéril en solución salina estéril 0.85% y mezclar

completamente.

- Dispensar 100 o 125 μ l en cada pozo de UNISCEPT 20 GP.
Incubar las placas 24 hrs. a 35-37°C.

3.3.3. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

- Método comercial MIC:

- **Preparación del inóculo:** Con un hisopo de algodón, tomar varias colonias de un cultivo puro de un medio no selectivo, de 18-24 hrs. a 35-37°C. Suspender las colonias en 5 ml de solución salina estéril al 0.85% o agua destilada estéril.

- Estandarizar la suspensión resultante a un equivalente de 0.5 Mac-Farland, mezclar el contenido y preparar una dilución 1:100 del inóculo en el volumen apropiado de solución salina estéril. Mezclar continuamente.

- Dispensar 50 μ l de inóculo en cada pozo. Incubar 24 hrs a 35°C en una incubadora que no contenga CO₂.

Nota: Un factor importante, es el tiempo de incubación que debe ser mínimo. 24 horas, para detectar resistencia a oxacilina.

3.3.4. Producción de slime.

I. Técnica:

- a) Inocular en 5 ml de caldo de soya tripticaseína varias colonias de un cultivo de 24 horas de estafilococos coagulasa negativos.
- b) Incubar a 35°C durante 48 horas.
- c) Retirar todo el sobrenadante, sin tocar las paredes del tubo.
- d) Añadir 10 gotas de safranina, tapar y rotar el tubo para que el colorante toque toda la superficie.
- e) Invertir el tubo para drenar el colorante.

II. Interpretación de la prueba.

Resultado positivo: Se observa una capa visible coloreado en las paredes del tubo.

Resultado negativo: La formación de un anillo se considera un resultado negativo.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. RESULTADOS.

En el período de estudio se aislaron 367 cepas de hemocultivos, de estos el 16.3% (60) fueron estafilococos coagulasa negativos (ECN). Del total de microorganismos aislados, el 86.3% (317) fueron causantes de bacteriemia real y el 13.6% (50) fueron considerados contaminantes, siendo los estafilococos coagulasa negativos los responsables del 54% (27) del total de las contaminaciones.

Las 60 cepas de ECN se aislaron de 57 pacientes, en uno de ellos la bacteriemia fue concomitante con candidemia y en tres existieron dos tipos de ECN. El promedio de edad de los pacientes fue de 38 años (1 mes a 79 años).

Del total de ECN aislados el 53.3% (33) fueron causantes de bacteriemia real en 30 pacientes y 43.7% (27) en 27 pacientes, fueron considerados contaminantes .

Por no haberse podido recuperar para su biotipificación y/o producción de slime, nueve cepas de estafilococos coagulasa negativos (cinco causantes de bacteriemia real y cuatro contaminantes) fueron eliminadas del análisis; por lo que solamente se hace mención de ellas en relación a la fuente de infección, quedando finalmente 51 de cepas de ECN para el análisis de biotipificación y slime.

Del total de cepas estudiadas el 37.2 % (19) se aislaron en 1992 y el 62.7 % (32) restante en 1993. La tabla 1 muestra la distribución de las cepas en los dos años en cuanto a producción de slime, origen nosocomial, y los dos principales sitios de origen de bacteriemia, resaltando que tanto la producción de slime ($X^2=4.26$, $p=.038$) como el sitio endocarditis fueron más frecuentes en 1993, aunque esta última en forma no significativa.

El 75.8% (25 cepas) de las bacterias aisladas en bacteriemia real fueron de origen nosocomial.

La tabla 2 muestra las diferentes especies identificadas, observándose que la especie aislada con mayor frecuencia fue *S. epidermidis* (85%) seguido de *S. warneri*, *S. haemolyticus* y *S.*

hominis (3.7% respectivamente).

TABLA 1. Distribución de aislamientos de ECN a través del tiempo.

Año	n	sl+ nosocomial	B. real	Endo-carditis	Catéter	
1992	19	6	9	12	2	6
1993	32	21	13	15	7	4

sl+ Slime positivo

TABLA 2. Frecuencia de especies de estafilococos coagulasa negativos aislados de hemocultivos.

Cepa	n	(%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	46	85.2
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	3.7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	3.7
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	3.7
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1.85
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1	1.85
TOTAL	54	100

Los sitios de origen de las bacteriemias, los biotipos y la producción de slime se señalan en la tabla 3, resaltando como los sitios más frecuentes, la endocarditis (12/33) y la infección de catéter intravascular (10/33). Tres de las cinco cepas causantes de bacteriemia real que se perdieron en el almacenaje, tenían como sitio de origen endocarditis, otra mediastinitis y la última neumonía.

TABLA 3. Sitios de origen de las bacteriemias reales por ECN: Correlación con especies, biotipos y producción de slime.

Fuente de bacteriemia Especie / Biotipo	n	(%)	slime (+) slime (-)	
			n	n
Endocarditis	12	37.5		
<i>Staphylococcus sp.</i>	3	25		
<i>St. epidermidis</i>	8	66.6	8	0
3040100	2	25.0	2	0
3000300	2	25.0	2	0
1000300	2	25.0	2	0
3040300	1	12.5	1	0
2040100	1	12.5	1	0
<i>St. hominis</i>	1	8.4	1	0
2000100	1	100.0	1	0
Cateter	10	31.3		
<i>St. epidermidis</i>	8	80.0	2	6
3000300	2	25.0	0	2
3040300	3	37.5	1	2
3042300	1	12.5	0	1
3140300	1	12.5	0	1
5040300	1	12.5	1	0
<i>St. haemolyticus</i>	1	10.0	0	1
4442300	1	100.0	0	1
<i>St. hominis</i>	1	10.0	1	0
2000000	1	100.0	1	0
Mediastinitis	8	25.0		
<i>Staphylococcus sp.</i>	1	12.5		
<i>St. epidermidis</i>	4	50.0	2	2
3040300	1	25.0	0	1
5000100	1	25.0	0	1
5040300	1	25.0	1	0
3000100	1	25.0	1	0
<i>St. warneri</i>	1	12.5	0	1
6460102	1	100.0	0	1
<i>St. intermedius</i>	1	12.5	0	1
3503300	1	100.0	0	1
<i>St. haemolyticus</i>	1	12.5	1	0
0442102	1	100.0	1	0
Neumonia	1	3.1		
<i>St. epidermidis</i>	1	100.0	1	0
3000100	1	100.0	1	0
Herida quirurgica	1	3.1		
<i>St. epidermidis</i>	1	100.0	1	0
3000100	1	100.0	1	0

Es importante resaltar que todas las cepas cuyo sitio de origen fue endocarditis fueron productoras de slime, de estas, el 89% se asentaron en válvulas protésicas y el 75% fueron biológicas; cabe mencionar que la paciente con endocarditis en válvula nativa tuvo una endocarditis nosocomial secundaria a cateterización endovascular prolongada. En oposición a lo anterior, de las cepas con sitio de origen en catéteres intravasculares, sólo 3/10 mostraron ser productoras de slime. Esta característica no fue diferente entre las cepas de origen nosocomial y las comunitarias (tabla 9)

En la tabla 4, se indican los biotipos de *S. epidermidis*, así como su patrón de resistencia, cabe destacar que el biotipo más frecuentemente aislado fue el 3040300 seguido del 3000300 y del 3000100, siendo sus características principales la utilización de urea y arginina y la hidrólisis del p-nitrofenil fosfato disódico y del p-nitrofenil- β -D-galactósido.

TABLA 4. Biotipos y frecuencia de resistencia de *S. epidermidis*.

Biotipo	n	(%)	GN (%)	CIP (%)	OX (%)	SXT (%)
3040300	14	32.5	57	50	64	57
3000300	7	16.3	86	57	86	43
3000100	5	11.6	60	40	20	40
3040100	3	6.9	33	0	66	0
1000300	2	4.6	50	0	0	50
3042300	2	4.6	100	0	0	50
5040300	2	4.6	100	50	50	100
2040100	2	4.6	0	50	0	50
0000300	2	4.6	50	0	0	0
3002300	1	2.3	100	0	0	0
3140300	1	2.3	0	0	0	0
5000100	1	2.3	100	100	100	100
3000302	1	2.3	100	100	100	0

GN= Gentamicina CIP= Ciprofloxacina OX= Oxacilina SIT= Cotrimoxazol

En bacteriemia real, el biotipo nosocomial y comunitario más frecuente fue el 3040300 de *S. epidermidis*; y de las cepas consideradas como contaminantes la más frecuente fue *S. epidermidis* con los biotipos 3040300 (35.5%) y 3000300 (14.2%).

La sensibilidad antimicrobiana realizada en las 43 cepas de *S. epidermidis* muestra que el 63% de las cepas fueron resistentes a gentamicina, el 49% a oxacilina, el 44% a cotrimoxazol y el 40% a ciprofloxacina siendo todas susceptibles a vancomicina.

Las otras especies de ECN aisladas, se presentan en la tabla 5, observándose que las dos cepas de *S. haemolyticus* fueron resistentes a todos los antibióticos ensayados excepto a vancomicina, y las dos cepas de *S. warneri* se mostraron sensibles a todos ellos.

TABLA 5. Biotipos y frecuencia de resistencia a antimicrobianos de ECN.

Cepa/biotipo	n	(%)	GN (%)	CIP (%)	OX (%)	SXT (%)
<i>St. warneri</i>						
6460102	1	50	0	0	0	0
6640102	1	50	0	0	0	0
<i>St. haemolyticus</i>						
4442300	1	50	100	100	100	100
0442102	1	50	100	100	100	100
<i>St. hominis</i>						
2000000	1	50	100	0	100	0
2000100	1	50	0	0	100	0
<i>St. capitis</i>						
0300002	1	100	0	0	0	100
<i>St. intermedius</i>						
3503300	1	100	100	0	100	0

GN= Gentamicina CIP= Ciprofloxacina OX= Oxacilina SXT= Cotrimoxazol

Los biotipos de las cepas productoras de slime, así como sus patrones de resistencia, se señalan en la tabla 6. El 100% de los biotipos 3040100, 5040300, 2040100 y 1000300 fueron productores de slime mientras que el 80% de los 3000100, el 50% de los 3000300 y 0000300, y el 36% de los 3040300 de las cepas de *S. epidermidis* mostraron esta característica.

En relación a su perfil de resistencia, las cepas productoras de slime mostraron mayor resistencia a gentamicina y oxacilina (59%), seguida de ciprofloxacina (52%) y cotrimoxazol (37%) (tabla 6); mientras que las cepas no productoras de slime, fueron con mayor frecuencia resistentes a gentamicina (63%), cotrimoxazol (50%), oxacilina (46%) y ciprofloxacina (21%), siendo significativa la diferencia solo para ciprofloxacina ($X^2=3.99$ $p=.045$) (tabla 7).

TABLA 6. Frecuencia de resistencia a antimicrobianos de cepas de estafilococos coagulasa negativos productores de slime.

Cepa/biotipo	n	(%)	GM (%)	CIP (%)	OX (%)	SXT (%)
<i>St. epidermidis</i>						
3040300	5	36	60	80	100	40
3000100	4	80	75	50	25	25
3000300	4	57	75	100	75	50
3040100	3	100	33	0	66	0
1000300	2	100	50	0	0	50
5040300	2	100	50	50	50	100
2040100	2	100	0	50	0	50
0000300	1	50	100	0	0	0
3000302	1	100	100	100	100	0
<i>St. hominis</i>						
2000000	1	100	100	0	100	0
2000100	1	100	0	0	100	0
<i>St. haemolyticus</i>						
0442102	1	100	100	100	100	100

En la tabla 8 se describe el perfil de resistencia en relación con los diferentes sitios de origen; las cepas que presentaron mayor resistencia fueron las aisladas de las puntas de catéteres, seguidas de las aisladas de mediastinitis y endocarditis.

En las cepas aisladas de endocarditis, la mayor resistencia se observó a oxacilina (55%), gentamicina y ciprofloxacina (45%) y cotrimoxazol (33%) (tabla 8).

Tabla 7. Frecuencia de resistencia a antimicrobianos de cepas de estafilococos coagulasa negativos no productoras de slime.

Cepa/Biotipo	n	(%)	GN (%)	CIP (%)	OX (%)	SXT (%)
<i>St. epidermidis</i>						
3040300	9	64	55	33	44	66
3000300	3	43	100	0	100	33
3042300	2	100	100	0	0	50
3000100	1	20	0	0	0	100
3002300	1	100	100	0	0	0
3140300	1	100	0	0	0	0
5000100	1	100	100	100	100	100
0000300	1	50	100	0	100	0
<i>St. haemolyticus</i>						
4442300	1	100	100	100	100	100
<i>St. warneri</i>						
6460102	1	100	0	0	0	0
6640102	1	100	0	0	0	0
<i>St. intermedius</i>						
3503300	1	100	100	0	100	0
<i>St. capitis</i>						
0300002	1	100	0	0	0	100

GN= Gentamicina CIP= Ciprofloxacina OX= Oxacilina SXT= Cotrimoxazol

En las cepas de origen nosocomial se encontró una mayor resistencia que en las cepas no nosocomiales (ver tabla 9); observándose un 73% de resistencia a gentamicina, 68% a oxacilina, 59% a cotrimoxazol y 54% a ciprofloxacina. En contraste, las cepas no nosocomiales fueron menos resistentes a gentamicina (52%), oxacilina (38%), cotrimoxazol (31%) y ciprofloxacina (24%).

TABLA 8. Sitio de origen de las bacteriemias y frecuencia de resistencia a antimicrobianos.

Fuente	n	GN (%)	CIP (%)	OI (%)	SIT (%)
Catéteres	10	70	20	70	60
Herida qx.	1	100	100	0	0
Mediastinitis	7	86	71	71	71
Endocarditis	9	45	45	55	33
Neumonía	1	100	0	0	0

GN= Gentamicina CIP= Ciprofloxacina OI= Oxacilina SIT= Cotrimoxazol

TABLA 9. Producción de slime y frecuencia en porcentaje de resistencia a antimicrobianos de bacteriemias nosocomiales y no nosocomiales.

Bacteriemia	n	sl+	sl-	GN	CIP	OI	SIT
nosocomial	22	12	10	73	54	68	59
no nosocomial	29	15	14	52	24	38	31

GN= Gentamicina CIP= Ciprofloxacina OI= Oxacilina SIT= Cotrimoxazol
sl+= Slime positivo sl-= Slime negativo

4.2. DISCUSION.

Generalmente los ECN habían sido considerados como colonizantes y contaminantes. En los últimos años se ha reconocido la importancia de estos como agentes etiológicos de infecciones adquiridas a nivel nosocomial (22), y como causantes de bacteriemias en 9% al 12.7% de los casos (13,27,30,33), lo cual no difiere de lo encontrado en el presente estudio (8.9%).

Sin embargo, los ECN continúan siendo los principales contaminantes de muestras para cultivo y en especial en hemocultivos en los que se informan hasta en el 49% de hemocultivos contaminados (13), siendo esta cifra muy similar a lo encontrado en este estudio (54%).

La especie de ECN aislada con mayor frecuencia fue *S. epidermidis* (85.2%), siendo esta la especie más frecuentemente aislada en hospitales (9,22,30,32), esto es debido a que forma parte de la flora normal de la piel del paciente o del personal médico y paramédico, a su capacidad de adherencia y a sus requerimientos nutricionales mínimos (7,17,27,32). Tal vez por ello, la mayor cantidad de cepas aisladas en bacteriemia real fueron de origen nosocomial.

En relación al sitio de origen de las bacteriemias, el mayor número correspondió a endocarditis (37.5 %), debido a que el Instituto es un centro de atención a pacientes con cardiopatías diversas. Se ha informado que los ECN son causantes de endocarditis en válvulas protésicas hasta en un 25% a 50% de los casos (11,12,23,24), siendo los índices observados para *S. epidermidis* de 24 a 67% dependiendo si la endocarditis es tardía o temprana (12,23).

Las puntas de catéter ocuparon el segundo lugar como fuente de bacteriemia, probablemente debido a que la mayoría de los pacientes del Instituto requieren de la instalación de catéteres centrales para monitorización y tratamiento endovenoso (35), se ha informado que la incidencia de bacteriemia por estos microorganismos asociada a catéter intravascular va del 18% al 77% en diferentes series

(13,15,27,30).

Se ha demostrado que los ECN se incorporan a estos dispositivos, mediante la producción de un glicocálix (slime); que les permite adherirse y aún cuando esta no es la única sustancia que interviene en este proceso, si se considera de las más importantes (4) no habiéndose demostrado aún su producción por todas las especies de ECN y si este es químicamente similar entre las especies. La producción de slime se ha correlacionado con la patogenicidad de estos microorganismos (17).

Se ha descrito que también participan en el proceso de adherencia algunas proteínas como la fibronectina, el colágeno, la elastina y la laminina (8). Además, se ha demostrado que la marcada hidrofobicidad de los ECN, es determinante en la adherencia a estos dispositivos (18).

En el presente estudio se encontró que el 52% de las cepas estudiadas fueron productoras de slime, correspondiendo esta característica solamente a los *S. epidermidis*, *S. hominis* y *S. haemolyticus*, (7,17) aún cuando se ha descrito también en *S. warneri* y *S. capitis* (26). Esta frecuencia fue similar a lo informado en otros hospitales de tercer nivel de la ciudad de México (63%) (4), difiriendo a lo encontrado en otros países en los que se informa una frecuencia del 67 al 76.7% (9,13).

Del total de cepas estudiadas, esta característica fue más frecuente en las cepas causantes de bacteriemia real que en las encontradas como contaminantes pero en forma no significativa ($p=0.49$ X^2 corregida por Yates).

El 100% de las cepas cuyo sitio de origen fue endocarditis fueron productoras de slime. Aún cuando previamente se había informado de esta asociación, esta solo fue del 40% en un grupo pequeño de pacientes (2/5) (26). Esta asociación se explica por la capacidad de los ECN productores de slime de adherirse al material de las válvulas protésicas. Por otro lado, el hecho de haber encontrado una mayor asociación a la previamente descrita, tal vez se encuentre en relación al material con que se manufacturan las válvulas protésicas, ya que de los 9 casos de endocarditis por ECN

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

en 8 la válvula era protésica y de ellas el 75% eran de material biológico (pericardio bovino).

En relación a las bacteriemias relacionadas a catéteres intravasculares, sólo el 30% de las cepas aisladas fueron productoras de slime, lo que difiere de lo informado en la literatura, en un estudio realizado en el Hospital Infantil de México, se reporta el 88% de cepas productoras de slime relacionadas a catéter (4). La explicación para esta diferencia pudiese estar dada por lo referido por Magued I.A. y cols. (28) quien informa que algunos de los ECN productores de slime pierden esta característica durante su almacenamiento, en seis de las diez cepas de bacteriemia relacionada a catéter el almacenamiento fue mayor a los 12 meses mientras que en sólo 2/9 de las causantes de endocarditis se presentó esta condición.

Por consiguiente, aún cuando la proporción de bacteriemias reales no fue estadísticamente diferente al paso del tiempo, si existió una tendencia a mayor proporción de bacteriemias reales en las cepas con más de un año de almacenamiento (12/19 en 1992 y 15/17 en 1993), lo que aunado a las observaciones de Magued (28) puede estar minimizando la diferencia de producción de slime en las cepas causantes de bacteriemia real.

La clasificación de los ECN ha sido siempre controvertida, se han propuesto diferentes sistemas, como Baird Parker (1965), Kloss y col (1974, 1976) y Marples (1981); sin embargo, el más utilizado es el de Kloss. Asimismo, la biotipificación de estos microorganismos se basan en estos sistemas, así como en los sistemas de multipruebas convencionales.

En el presente estudio, se utilizó el sistema de multipruebas 20 GP de API en el que se analizan 20 características bioquímicas para identificación de cocos gram positivos, generándose biotipos numéricos por un sistema binario; de acuerdo a este, el biotipo nosocomial y comunitario más frecuentemente encontrado fue el 3040300 de *S. epidermidis* que correspondería al 3040 de de API Staph Ident System (22). Las características bioquímicas que presenta este biotipo y que han sido descritas en otros estudios,

(13,29,32) son la capacidad de hidrolizar la urea y la arginina.

Los ECN no presentan perfiles de susceptibilidad predecibles, las cepas asociadas a infecciones nosocomiales en general presentan resistencia múltiple y pueden tener plásmidos de resistencia que diseminan a otras especies bacterianas.

Las cepas ensayadas en este estudio mostraron resistencia múltiple, la mayoría fueron resistentes a los antibióticos recomendados para el tratamiento de infecciones por estos microorganismos, como isoxacil penicilinas (oxacilina), gentamicina, cotrimoxazol y ciprofloxacina, lo que ha sido previamente descrito; siendo, sin embargo, todas las cepas sensibles a vancomicina.

La marcada resistencia detectada para oxacilina, es reflejo de la elevada proporción de infecciones nosocomiales en este estudio, en las que, como ha sido descrito previamente, la resistencia se encuentra en aumento (35). En el caso de esta serie muy probablemente el empleo de cefalosporinas de primera generación como profilaxis para cirugía cardíaca a influido directamente.

Es importante resaltar que la especie con mayor multiresistencia fue *S. haemolyticus* y la más susceptible *S. warneri* situación que no había sido informada previamente, probablemente por la baja frecuencia con que se aislan estos microorganismos como causantes de bacteriemia.

Los biotipos que con mayor frecuencia relativa fueron productores de slime correspondieron al 3040100, 1000300, 5040300 y 2040100 de *S. epidermidis* situación que tampoco había sido descrita probablemente por la ausencia de estudios relacionados a biotipificación de ECN y producción de slime y a la baja frecuencia con que se aislan estos biotipos.

El perfil de resistencia en las cepas productoras de slime en comparación de las cepas no productoras en general no fue diferente excepto para ciprofloxacina que mostró menor actividad en cepas productoras de slime, lo que se explica por lo informado por Gemmel y Goldmann quienes mencionan que la producción de este biofilm puede interferir con el ingreso del antimicrobiano a la bacteria

(18,19). Se ha informado un 53% de ECN productores de slime resistentes a ciprofloxacina y se aduce este mecanismo de resistencia (26).

El perfil de resistencia en relación al sitio de origen de la bacteriemia mostró, como era de esperarse, cepas más resistentes en infecciones en las que o bien se empleo un betalactámico como profilaxis o se empleo como tratamiento, siendo por consiguiente mayor la resistencia a oxacilina (Vgr. endocarditis, cateteres y mediastinitis).

CONCLUSIONES

- La prevalencia de los estafilococos coagulasa negativos en bacteriemias en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" fue similar a la informada en otros hospitales de tercer nivel en México y en otros países.

- *Staphylococcus epidermidis* fue la especie de mayor incidencia, siendo los biotipos 3040300, 3000300 y 3000100 los más frecuentemente aislados.

- Los estafilococos coagulasa negativos presentaron un perfil de multirresistencia a los antibióticos de elección a excepción de vancomicina.

- Las cepas de estafilococos coagulasa negativos cuyo sitio de origen fue endocarditis fueron productoras de slime.

- El perfil de resistencia de las cepas productoras de slime en comparación con las cepas no productoras no fue diferente, excepto para ciprofloxacina que mostró menor actividad en las cepas productoras de slime.

- Se sugiere estudio prolectivo para evaluar la utilidad clínica de la determinación de producción de slime.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Balows S, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD and Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. 5a. ed. American society for microbiology. Washington DC. 1991.
- 2.- Bartlett RC, Ellner PD, Washington JA, and Sherris JC. Cumulative techniques and procedures in clinical microbiology. Blood Cultures. American Society for Microbiology. Washington DC. 1974.
- 3.- Bisno AL, Waldungen AF. Infections associated with indwelling medical devices. American Society for Microbiology. Washington, D.C. 1989.
- 4.- Calderón JE, Solórzano SF, Conde GC, Echániz AG, Arredondo GJL, y Reyes BJM. Septicemia neonatal por *Staphylococcus epidermidis*. Bol Med Infant Mex. 1987;44:511-520.
- 5.- Chambers HF. Coagulase-negative Staphylococci resistant to β -lactam antibiotics in vivo produce penicillin-binding protein 2a. Antimicrob. Agents Chemother. 1987;31:1919-1924.
- 6.- Christensen GD, Bisno AL, and Parisi JT. Nosocomial septicemia due to multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis*. Ann Intern Med. 1982;96:1-10.
- 7.- Christensen GD, Parisi JT, Bisno AL, Simpson A, and Beachey E. Characterization of Clinically significant strains of Coagulase-Negative Staphylococci. J. Clin. Microbiol. 1983;18:258-269.
- 8.- Christensen GD, Simpson A, Bisno AL, and Beachey E. Adherence of Slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infect. Immun. 1982;37:318-326.
- 9.- Davenport DS, Massanari RM, Pfaller MA, Bale MJ, Streed SA, and Hierholzer WJ. Usefulness of a Test for slime productiol as a marker for clinically significant infections with coagulase-negative Staphylococci. J. Infect. Dis. 1986;153:332-339.
- 10.- Deighton MA, and Balkau B. Adherence measured by microtiter assay as a virulence marker for *Staphylococcus epidermidis* infections. J. Clin. Microbiol. 1990;28:2442-2447.

11.- Delgado DG, Cobbs CG. Infection of prosthetic valves and intravascular devices. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. Principles and practice of infectious diseases. John Wiley and Sons. New York:1979.

12.- Dismukes WE. Prosthetic valve endocarditis factors influencing outcome and recommendations for therapy. In: Bisno AL, ed. Treatment of Infective Endocarditis. New York: Grune and Stratton;1981:167-193.

13.- Fidalgo S, Vázquez F, Mendoza MC, Pérez F, and Méndez FJ. Bacteremia due to *Staphylococcus epidermidis*: microbiologic, epidemiologic, clinical, and prognostic features. Rev. Infect Dis. 1990;12:520-528.

14.- Finegold Sidney M, Baron Ellen J. Bailey Scott. Diagnóstico microbiológico. 7a. edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires 1989.

15.- Forse RA, Dixon C, and Bernard K. *Staphylococcus epidermidis*: an important pathogen. Surgery. 1979;86:507-514.

16.- Freeman BA. Tratado de Microbiología de Burrows. Nueva Editorial Interamericana. México, D.F. 1984.

17.- García GR, García AG, Andrade AJ, Hernández RS, y Mendoza PH. Caracterización de cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativos. Lab-acta. 1993;5:147-152.

18.- Gemmell CG. Coagulase-negative staphylococci. J. Med. Microbiol. 1986;22:285-295.

19.- Goldmann DA, and Pier GB. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. Clin. Microbiol. Rev. 1993;6:176-192.

20.- Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. Science. 1987;237:1588-1595.

- 21.- Ióvine S. El laboratorio en la clínica. Metodología analítica, fisiopatología e interpretación semiológica. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana Argentina, 1985.
- 22.- Joseph FJ Jr., Grieshop TJ, Atkins LM, and Platt ChG. Widespread colonization of personnel at a veterans affairs medical center by methicillin-resistant, coagulase-negative Staphylococcus. Clin. Infect. Dis. 1993;17:380-388.
- 23.- Karchmer AW, Archer GL, and Dismukes WE. Staphylococcus epidermidis causing prosthetic valve endocarditis: microbiologic and clinical observations as guides to therapy. Ann. Intern. Med. 1983;98:447-455.
- 24.- Karchmer AW, Swartz MN. Infective endocarditis in patients with prosthetic heart valve In: Kaplan E, Taranta AV, eds. Infective endocarditis: An American Heart Association Symposium. Monograph 52. Dallas, Texas: American Heart Association;1977:58-61.
- 25.- Koneman EW. Diagnóstico microbiológico, texto y atlas color. Editorial Médica Panamericana. 1991.
- 26.- Kotilainen P. Association of coagulase-negative Staphylococcal slime production and adherence with the development and outcome of adult septicemias. J. Clin. Microbiol. 1990;28:2779-2785.
- 27.- Lowy FD, and Hammer SM. Staphylococcus epidermidis infections. Ann Intern Med. 1983;99:834-839.
- 28.- Magued AI, Groschel DHM, Mandell GL, and Wenzel RP. Association of slime with pathogenicity of coagulase-negative Staphylococci causing nosocomial septicemia. J. Clin. Microbiol. 1985;22:1025-1029.
- 29.- Males BM, Rogers WA, and Parisi JT. Virulence factors of biotypes of Staphylococcus epidermidis from clinical sources. J. Clin. Microbiol. 1975;3:256-261.
- 30.- Martin MA, Pfaller MA, and Wenzel RP. Coagulase-negative Staphylococcal bacteremia. mortality and hospital stay. Ann. Intern. Med. 1989;110:9-16.

31.- Murray PR. Microbiología Médica. Times Mirror de España, Madrid 1993.

32.- Parisi JT, Coagulase-negative Staphylococci and epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. Microbiol Rev. 1985;49:126-139.

33.- Ponce de Leon S, and Wenzel RP. Hospital-acquired bloodstream infections with *Staphylococcus epidermidis*. Am J Med. 1984;77:639-644.

34.- Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME y Holt JG. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986.

35.- Villegas O, Rivera E, López-Vidal Y, y Vázquez R. Susceptibilidad a antimicrobianos de microorganismos aislados en hemocultivos de pacientes del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Rev. Invest. Clin. 1994;46:1-11.

36.- Wilkinson BJ, Maxwell S, and Schaus SM. Classification and characteristics of coagulase-negative, methicillin-resistant Staphylococci. J. Clin. Microbiol. 1980;12:161-166.