



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Frecuencia e importancia de la colonización en fosas nasales por *Staphylococcus aureus* en pacientes y personal de salud del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (INCICh) en el periodo comprendido de septiembre 2008 a septiembre 2010

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

CLAUDIA JAZMIN PEREYRA QUIROZ

MÉXICO, D.F.

2011





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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: EDUARDO BONILLA ESPINOSA

VOCAL: Profesor: LUCIANO HERNANDEZ GOMEZ

SECRETARIO: Profesor: MARIA DEL ROSARIO VAZQUEZ LARIOS

1er. SUPLENTE: Profesor: GONZALO CASTILLO ROJAS

2° SUPLENTE: Profesor: ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE
CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ" (INCICH)**

ASESOR DEL TEMA:

M.A.O.S. MARIA DEL ROSARIO VÁZQUEZ LARIOS

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q.F.B. ADRIANA GUADALUPE MEJÍA CHÁVEZ

SUSTENTANTE:

CLAUDIA JAZMIN PEREYRA QUIROZ



DEDICATORIA

Cada día que comienza, es escribir una página más en nuestro libro: la vida
Convertir un sueño en realidad requiere de esfuerzos, a veces el camino es tan largo que decidimos desistir, pero al observar la luz de la luna filtrarse por entre los ojos recordamos que es un reto a enfrentar.

Hace tiempo me mire en el espejo y no encontré nada, tiempo después volví a mirar y encontré una imagen, hoy en día, observó en el mismo espejo y me encuentro a mi misma.

El tiempo transcurre y doy gracias de seguir viva, y aunque sea largo el camino, he decidido aceptar todo lo que se me ofrece, a mantenerme firme ante la adversidad, porque he comprendido que no hay cosa más deliciosa que al caer el ocaso disfrutar del sabor del triunfo.

A veces las personas entran a nuestra vida, sin saber que jugaran un papel importante en ella, de no ser así en este momento no podría presentar este trabajo que es solo una pequeña muestra de los triunfos que vendrán adelante y que confío contribuya al conocimiento de los años venideros.
Por tal motivo, me atrevo a agradecer y dedicar el presente a:

MIS PADRES

María Guadalupe Quiroz Hernández

José Luis Pereyra Sandoval

Quienes no solo decidieron transmitirme la vida, sino por todos sus cuidados a lo largo de todos estos años. Este triunfo les pertenece a ustedes.

MIS HERMANOS

Luis y Jacqueline, por todas esas noches en que me salvaron de morir de inanición y sueño con sus frases ¡te lo comes porque ya lo hice! o “ya apaga la luz”

MIS AMIGOS

Karla, Maribel, Luis y Oscar (Peluche) por todas la chocoaventuras que hemos experimentado a lo largo de la carrera y que espero seguir disfrutando a su lado.



A MIS PROFESORES

María de la Luz Soto Rendón

Guillermo Concepción Salazar

Alejandro Ramírez Chávez

Claudia Huesca

Quienes dejaron en mi la semilla del conocimiento y el valor para enfrentar
nuevos retos.

A MIS NUEVA AMISTADES

Q.F.B. Verónica Rodríguez Galicia

Q.F.B. Ana María Hernández Dueñas

Por todos los consejos y apoyo incondicional en la realización de este proyecto

A TODOS LOS QUE ME HAN ACOMPAÑADO A LO LARGO DE MI TRAYECTORIA

Familiares, amigos, conocidos...

Porque jamás acabaría la lista

PERO SOBRETUDO A

MAOS. María del Rosario Vázquez Larios

Por aceptarme y brindarme la oportunidad para la realización de un sueño que
hoy es una realidad.

Q.F.B. Adriana Guadalupe Mejía Chávez

Quién no solo ha sido profesora y maestra sino mi mejor amiga, y quién hasta el
momento me sigue debiendo una décima

Una vez más: ¡¡¡MIL GRACIAS!!!



INDICE GENERAL

PÁG

I INDICE DE FIGURAS.....	7
II INDICE DE CUADROS.....	8
III INDICE DE DIAGRAMAS.....	8
IV ABREVIATURAS.....	9
INTRODUCCIÓN	
1.1 Generalidades de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.2 Clasificación taxonómica.....	12
1.3 Características morfológicas y bioquímicas.....	12
1.4 Estructura antigénica y factores de patogenicidad.....	13
1.5 Propiedades fisiológicas.....	19
1.5.1 Características macroscópicas.....	19
1.5.2 Condiciones de incubación.....	20
1.5.3 Resistencia a agentes físicos, químicos y biológicos.....	20
1.6 Epidemiología de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
1.6.1 Patología.....	22
1.6.2 Infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i>	24
1.7 Aspectos generales de la resistencia bacteriana.....	29
1.8 Resistencia a antimicrobianos en <i>Staphylococcus aureus</i>	31
1.8.1 Antibióticos β -lactámicos: generalidades, estructura química, clasificación y mecanismo de acción.....	31
1.8.2 Macrólidos (claritromicina): generalidades, estructura química y mecanismo de acción.....	38
1.8.3 Sulfonamidas: generalidades, estructura química, mecanismo de acción.....	38
1.8.4 Rifampicina: generalidades, estructura química, mecanismo de acción.....	40
1.8.5 Tetraciclina: generalidades, estructura química, mecanismo de acción.....	41
1.9 Resistencia a metilina en <i>Staphylococcus aureus</i>	42



1.9.1	Penicilinas semisintéticas.....	44
1.9.2	Casette cromosomal estafilocócico mec (SCCmec).....	46
1.9.3	Características importantes a destacar de la resistencia intrínseca a meticilina.....	50
1.9.4	Distribución clonal de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistentes.....	51
1.9.5	Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA y CA-MRSA.....	53
1.9.6	Importancia clínica de MRSA.....	55
1.9.6.1	Infecciones nosocomiales.....	55
1.9.6.2	Infecciones adquiridas en la comunidad.....	56
2.	JUSTIFICACIÓN.....	63
3.	OBJETIVOS.....	64
4.	METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN.....	65
5.	DIAGRAMA EXPERIMENTAL.....	71
6.	RESULTADOS.....	77
7.	DISCUSIÓN.....	84
8.	CONCLUSIONES.....	91
9.	SUGERENCIAS.....	93
10.	REFERENCIAS.....	94



I INDICE DE FIGURAS

No. De Figura	PÁG
Figura 1. <i>Staphylococcus aureus</i> : Morfología microscópica. Tinción de Gram, cocos Gram positivos agrupados racimos.....	12
Figura 2. Estructura de la pared celular de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Figura 3. Morfología macroscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> en el medio de cultivo agar sangre.....	20
Figura 4. Síndrome de piel escaldada estafilocócica en niño de 2 años.....	27
Figura 5. Localización celular de cada uno de los componentes que intervienen en el mecanismo de resistencia a meticilina por medio del gen <i>mecA</i>	35
Figura 6. Inducción de la síntesis de β -lactamasas estafilocócicas en la presencia de β -lactámicos.....	36
Figura 7. Estructura química de claritromicina.....	38
Figura 8. Estructura química TMP-SZM.....	39
Figura 9. Estructura química de la rifampicina.....	40
Figura 10. Estructura química de la tetraciclina.....	41
Figura 11. Estructura química de la meticilina y oxacilina.....	44
Figura 12. Representación de un fragmento de DNA cromosómico de MRSA.....	45
Figura 13. Mecanismo de resistencia de <i>S. aureus</i> a la meticilina.....	46
Figura 14. Disposición de los tipos SCCmec I-V. Los principales elementos de los cinco tipos SCCmec.....	49
Figura 15. Representación gráfica de la evolución de diferentes fenotipos y clonas asociados a infecciones comunitarias.....	58
Figura 16. Representación gráfica de la evolución de diferentes fenotipos y clonas asociados a infecciones hospitalarias.....	59
Figura 17. Infección MRSA producida en quirófano.....	61
Figura 18. Focos de Infección más frecuentes por MRSA.....	61
Figura 19. Forma de realizar las lecturas de halo de inhibición usando luz transmitida.....	67
Figura 20. Prueba de Screening.....	80
Figura 21. Comparación entre la prueba de aglutinación Slidex y la técnica establecida por CLSI.....	81



II INDICE DE CUADROS

No. De cuadro	PÁG
Cuadro 1. Principales factores de patogenicidad presentes en <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Cuadro 2. Clasificación de antibióticos betalactámicos.....	32
Cuadro 3. Estructura química de los betalactámicos.....	32
Cuadro 4. Principales antibióticos que han generado resistencia en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Cuadro 5. Distribución de las principales clonas de <i>Staphylococcus aureus</i> metilino resistentes.....	52
Cuadro 6. Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA CA-MRSA.....	54

III INDICE DE DIAGRAMAS

No. De diagrama	PÁG
Diagrama 1. Pasos cruciales en el proceso de coagulación de la sangre y su relación con la reacción en la que participa la coagulasa estafilocócica.....	16
Diagrama 2. Principales aspectos asociados a la intoxicación alimentaria estafilocócica.....	28



IV ABREVIATURAS

agr	Accesorio gen regulador (“accessory gene regulador”)
ALT	Ácidos lipoteicoicos
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Infusión de cerebro y corazón (“Brain Heart Infusion”)
BORSA	Bordeline-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
° C	Grados centígrados
Ca	Calcio
CA-MRSA	MRSA adquirida en la comunidad (“Community acquired MRSA”)
Ccr	Casete cromosomal recombinasa (“cassette chromosome recombinase”)
CDC	Centros de Prevención y Control de Enfermedades (“Centers for Disease Control and Prevention”)
CHO’s	Carbohidratos
CLSI	“Clinical and Laboratory Standards Institute”
cm	Centímetros
CRF	Factor Reactivo de la Coagulasa
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
Fe	Hierro
FOX	Cefoxitin
G.S.	Gelosa Sangre
HA-MRSA	MRSA adquirida en el hospital (“Hospital-acquired MRSA”)
IGg	Inmunoglobulinas
IS	Secuencias de inserción
kDa	Kilodaltones
µg	Microgramos
MH	Mueller-Hinton
mL	Mililitros
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistente
MSA	Manitol Sal Agar
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilino sensibles



NaCl	Cloruro de Sodio
NNIS	Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales ("National Nosocomial Infectious Surveillance System")
ORF	Marco de lectura abierto ("Open Reading Frame")
OX	Oxacilina
PABA	Ácido p-aminobenzoico
PBP o PFB	Proteínas Fijadoras de Penicilina ("Penicillin-binding proteína")
PTSAgs	Superantígenos o Superantígenos Toxina Pirogenicos
PVL	Leucocidina de Panton-Valentine ("Panton-Valentine leukocidin")
RA	Rifampicina
RHOVE	Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica
RNA	Ácido ribonucleico
SCCmec	Casete Cromosomal Estafilocócico mec ("Staphylococcal cassette chromosome mec")
SFP	Intoxicación estafilocócica por alimentos ("staphylococcal food poisoning")
SNC	Sistema Nervioso Central
SSSS	Síndrome de piel escaldada estafilocócica ("staphylococcal scalden-skin syndrome")
TETRA	Tetraciclina
TMP-SMZ	Trimetoprim-sulfametoxazol
Tn	Transposones
TSA	Tripticase-Soya-Agar
TSST-1	Toxina 1 del Síndrome del Shock Tóxico
UFC	Unidades Formadoras de Colonias



INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es un microorganismo que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos. La bacteria se encuentra generalmente en fosas nasales y en ocasiones en piel o ropa, y de estos sitios puede transmitirse a otras regiones del cuerpo o membranas mucosas. En los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas, produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en cualquier región anatómica, causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como endocarditis.

En la actualidad las cepas de *Staphylococcus aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes.

El interés actual del estudio de este patógeno deriva de su elevada frecuencia y por representar, en el caso de cepas resistentes a meticilina (MRSA), una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en nuestro país. Sin embargo, en años recientes las cepas MRSA han aparecido en la comunidad, provocando problemas en diversos países (España, Argentina, Chile, México, entre otros). El mecanismo de resistencia de MRSA consiste en la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP), denominada PBP2a con baja afinidad para los antibióticos β -lactámicos, esta proteína es codificada por un nuevo gen denominado *mecA* y conserva su acción de transpeptidasa en la síntesis de la pared bacteriana aún cuando las otras PBP de *S. aureus* estén inhibidas por los antibióticos β -lactámicos.

La adquisición de esta resistencia se debe principalmente al intercambio de manera horizontal de genes que son transportados por elementos genéticos móviles, en este caso el gen *mecA* el cual se localiza en el cassette cromosomal estafilocócico *mec* (SCC*mec*).

La resistencia a meticilina se determina utilizando el antibiótico oxacilina por lo que se ha sugerido que estas cepas deberían llamarse *S. aureus* resistente a oxacilina ("Oxacillin-resistant *S. aureus*, ORSA).

En México existe un número limitado de estudios sobre la prevalencia e incidencia de cepas MRSA, de ahí la importancia de este estudio.



1.1 Generalidades de *Staphylococcus aureus*

Cohn introdujo el género *Micrococcus* para incluir las bacterias esféricas pequeñas, como son los estafilococos, estreptococos, micrococos y otros grupos.¹ El nombre de estafilococos fue designado por Sir Alexander Ogston después de utilizar la expresión griega *staphyle* (racimo de uvas) para describir las características de crecimiento en grupos semejantes a uvas⁵. (Ver figura 1)

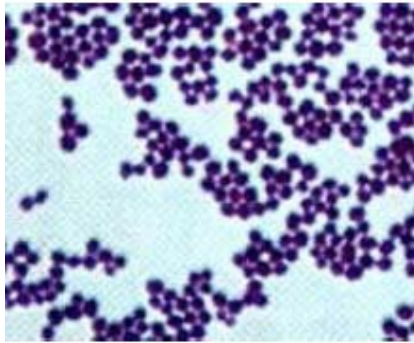


Figura 1. *Staphylococcus aureus*: Morfología microscópica. Tinción de Gram, cocos Gram positivos agrupados racimos

1.2 Clasificación taxonómica

El Volumen III de la segunda edición del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática, agrupa a *Staphylococcus aureus* en la sección de "Bacterias Gram positivas con bajo porcentaje de contenido en G+C", pertenece al Phylum: *Firmicutes*; Clase: *Bacilli*; Orden: *Bacillales*; Familia *Staphylococaceae* y Género: *Staphylococcus*,^{13,33} el cual contiene mas de 32 especies diferentes, clasificadas a partir de la composición de DNA; muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del ser humano; no tiene otros hábitats importantes, excepto cuando están involucrados en infecciones.^{1,4,5}

1.3 Características morfológicas y bioquímicas

S. aureus es un coco Gram-positivo, su diámetro fluctúa entre 0,8 y 1,0 micrómetros (alrededor de un décimo del diámetro del eritrocito humano) y no posee estructuras de locomoción.

No forma esporas, puede encontrarse solo o en pares y en cadenas cortas o en racimos cuando proviene de muestras biológicas o cultivos sólidos.⁶



Es anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. Fermenta lentamente muchos carbohidratos y produce ácido láctico pero no gas y la actividad proteolítica varía.³

El microorganismo produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en agar sangre.^{1,3,4}

Su pared celular consta de una capa externa rica en proteínas y de una capa interna de mucopéptido y su estructura antigénica se ha definido con plenitud, en especial la proteína A la cual se utiliza para diferenciarlo por la reacción pseudoinmune.⁶

Las principales características que permiten identificar a *S. aureus* para su diferenciación de otras especies del género son:

- Producción de la enzima coagulasa.
- Actividad fosfatasa alcalina.
- Producción aeróbica de ácido a partir de D-trehalosa y D-manitol.
- Producción de desoxirribonucleasa termoestable.

Las cepas de *S. aureus* dan positivas, además, las siguientes reacciones:

- β -glucosidasa.
- Arginina descarboxilasa.
- N-acetilglucosamina.
- Acetoína.
- Reducción de nitratos.
- Ureasa
- Resistencia a polimixina B (Discos 300 U).^{2,6}

1. 4 Estructura antigénica y factores de patogenicidad

Algunas cepas de *S. aureus* poseen cápsula la cual les protege de la quimiotaxis y fagocitosis facilitando a su vez la adherencia a materiales.

La pared celular de *S. aureus* esta formada principalmente por peptidoglucano, ácido teicoico, proteína A y factor de agrupamiento. El peptidoglucano es el exoesqueleto rígido de la bacteria y es importante en la patogenia de la infección, ya que induce la producción de interleucina 1 y anticuerpos opsónicos, además de atraer químicamente leucocitos polimorfonucleares, posee una actividad parecida a endotoxina, que genera un fenómeno de Shwartzman local y activa el complemento.



Los ácidos teicoicos, polímeros de glicerol o fosfatóribitol (polisacáridos complejos), están unidos al peptidoglicano y a la membrana citoplasmática y son específicos de especie. *S. aureus* presenta el ácido teicoico-ribitol con residuos de N-acetilglucosamina (polisacárido A).¹ (Ver figura 2)

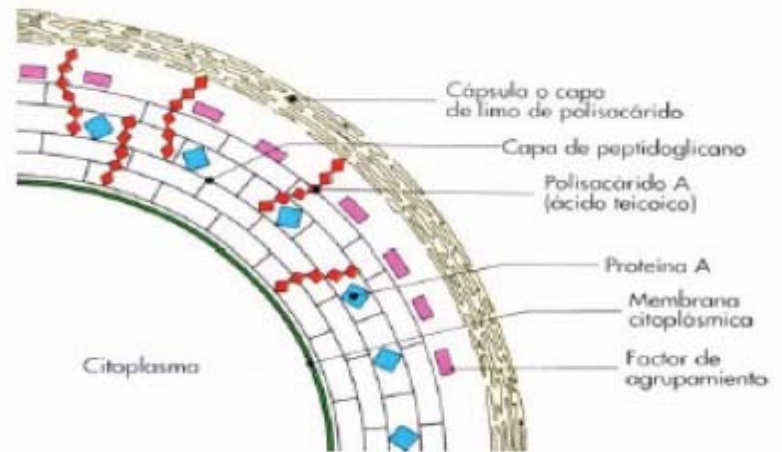


Figura 2. Estructura de la pared celular de *Staphylococcus aureus*

S. aureus produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano. Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas. En el cuadro 1 se muestran los principales factores de patogenicidad detectados.^{4,6}

Cuadro 1. Principales factores de patogenicidad presentes en *Staphylococcus aureus*

Estructurales	Enzimas	Toxinas
Peptidoglicano	Diseminación	Hemolisinas α, β, γ y δ
Proteína A	Hialuronidasa	Leucocidina de Pantone-Valentine (PVL)
Factores de adhesión (Glicocálices y ácidos lipoteicoicos ALT)	Colagenasa	Enterotoxinas
Polisacáridos capsulares (en algunas cepas)	Fibrinolisisina	Estafilocócicas
	Lipasas	Toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1)
	Interfieren fagocitosis	Toxinas exfoliativas (ETA y ETB)
	Coagulasa	
	Catalasa	
	DNAsa o nucleasas	
	Fosfatasa	
	Proteasas	
	Inactivan antibióticos	
	β -lactamasas	



Estos factores participan en la adhesión y adquisición de nutrientes para el microorganismo y sirven a su vez para evadir la respuesta inmune del huésped. En base a lo anterior se han clasificado en tres categorías:

1. Involucrados en la adherencia a la célula del huésped o matriz extracelular: fibronectina, proteínas de unión a fibrinógeno, colágeno y coagulasa.
2. Involucrados en la evasión de la respuesta inmune: toxinas estafilocócicas, TSST-1, PVL, proteína A, lipasas y polisacáridos capsulares.
3. Involucrados en la invasión y diseminación en los tejidos del huésped: hemolisinas.

A continuación se analizan los factores de patogenicidad más importantes:

- **Catalasa:** es una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Químicamente es una hemoproteína similar a la hemoglobina, con la diferencia de que los cuatro átomos de hierro contenidos en su molécula se encuentran como Fe^{3+} .⁶

La catalasa es empleada por el microorganismo como una enzima protectora, ya que la acumulación de peróxido de hidrógeno es mortal para las células bacterianas; el peróxido de hidrógeno proviene del metabolismo aerobio de carbohidratos o es liberado tras el proceso de fagocitosis. Esta propiedad se utiliza para diferenciar a los estafilococos de los estreptococos que no poseen esta enzima.^{1,6}

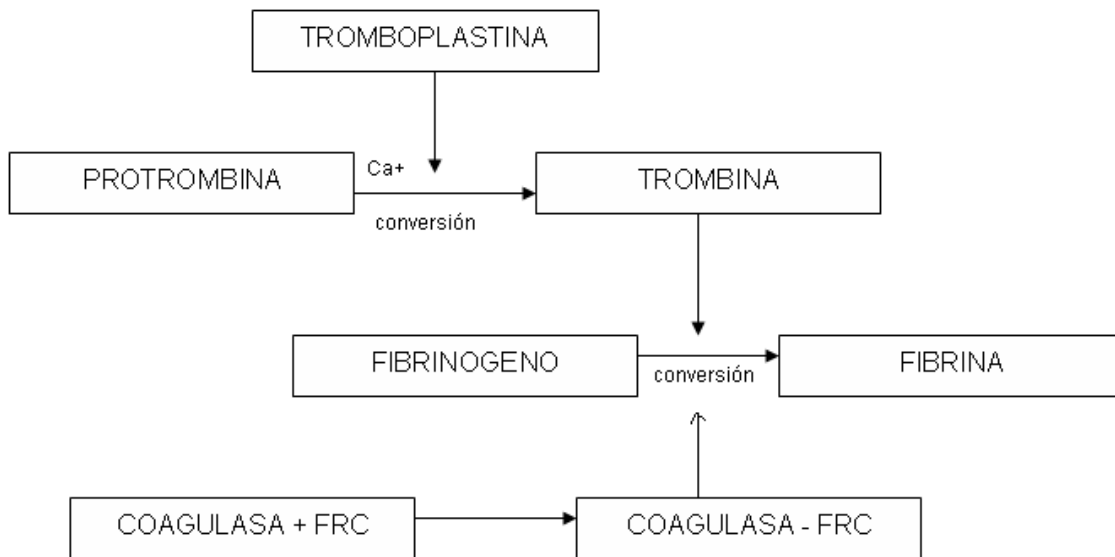
- **Coagulasa:** es una enzima termoestable de composición química desconocida⁶ que se utiliza como criterio de identificación para esta especie, tiene la capacidad de transformar el fibrinógeno en fibrina.¹ Existe en dos formas, una forma unida (factor de aglomeración o agrupamiento) y una forma libre.

La coagulasa unida a la pared celular del estafilococo se une a la protrombina, este complejo transforma el fibrinógeno en fibrina insoluble provocando la aglomeración de los estafilococos. La coagulasa libre reacciona con el factor reactivo de la coagulasa (CRF), presente en el plasma, dando lugar a un complejo análogo a la trombina que reacciona con el fibrinógeno formando un coagulo de fibrina. La importancia de la coagulasa en la patogenia de la enfermedad radica en que esta enzima causa la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso



estafilocócico, localizando la infección y protegiendo a la bacteria de la fagocitosis. ^{1,4} (Ver diagrama 1)

Diagrama 1. Puntos críticos en el proceso de coagulación de la sangre y su relación con la reacción en la que participa la coagulasa estafilocócica



Como se puede observar en el diagrama, existe una coincidencia y una diferencia entre los mecanismos de la coagulación sanguínea y el que implica la coagulasa: ambos requieren de fibrinógeno, pero el que implica a la enzima estafilocócica no requiere la presencia de iones Ca^{2+} .

- **Hialuronidasa:** esta enzima hidroliza el ácido hialurónico o mucopolisacáridos ácidos presentes en la matriz del tejido conectivo, favoreciendo la diseminación de la bacteria en los tejidos.¹
- **Lipasas:** Todas las cepas de *S. aureus* producen lipasas diversas. Su función es hidrolizar los lípidos, lo que resulta esencial para la supervivencia de los estafilococos en las zonas sebáceas del cuerpo del huésped, facilitando la colonización y/o diseminación.¹
- **Nucleasa o DNAsa:** es una enzima que tiene propiedades endo y exo-nucleolíticas además de empalmar o clivar DNA o RNA, es producida por la mayoría de las cepas de *S. aureus*.^{1,6}



-
- **Proteína A:** es un componente de la pared celular de muchas cepas de *S. aureus*. Esta unida de forma covalente al peptidoglucano y tiene afinidad por el receptor Fc de las inmunoglobulinas IgG1, IgG2 e IgG4, con lo que elimina de modo eficaz la inmunidad mediada por anticuerpos.¹
 - **Toxinas:** *S. aureus* produce 5 toxinas citolíticas dañinas para las membranas (alfa, beta, gamma, delta y leucocidina Panton-Valentine [VP]; algunas cepas producen toxinas exfoliativas (A y B), toxina 1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1) y enterotoxinas (A,B,Cn,D,E,G,H e I). Las citotoxinas pueden lisar neutrófilos, con liberación de enzimas lisosómicas y lesión consiguiente de los tejidos vecinos. Cada una de estas toxinas tiene un efecto potente en las células del sistema inmune así como efectos biológicos.

La TSST-1 y las enterotoxinas estafilocócicas se conocen también como superantígenos o superantígenos toxina pirogénicos (PTSAgs), por su actividad biológica de pirogenicidad y superantigenicidad.^{1,4}

Toxina alfa (α) o α hemolisina: sus monómeros son secretados por *S. aureus* y dentro de la membrana celular forman heptámeros cilíndricos. Esta forma es capaz de lisar células eucariotes (eritrocitos, leucocitos, hepatocitos, plaquetas, fibroblastos diploides humanos, entre otros.) Esta toxina es una proteína codificada genéticamente por el cromosoma o por un plásmido. Es considerada como el prototipo de las citotoxinas formadoras de poros, permitiendo la entrada y salida de iones y moléculas pequeñas que eventualmente producen la muerte de células. La formación de poros también produce eventos secundarios como activación de endonucleasas, excitosis de plaquetas y liberación de citocinas y mediadores inflamatorios. Además, al romper la integridad celular aumenta la permeabilidad vascular. El efecto final en el hospedero es el edema pulmonar o síndrome de dificultad respiratoria. La toxina α es dermonecrótica y neurotóxica.^{1,4}

Toxina beta (β) o esfingomielinasa C: es altamente hemolítica. Es una proteína codificada genéticamente en el cromosoma bacteriano. Tiene actividad de fosfolipasa C, la cual es específica para la esfingomielina y lisofosfatidilcolina de la membrana de los eritrocitos. Cataliza la hidrólisis



de los fosfolípidos y la intensidad de la lisis es proporcional a la concentración de esfingomielina expuesta en la superficie celular.^{1,4}

Toxina delta (δ) o δ -hemolisina: es un péptido de 26 aminoácidos, termoestable. El 97 % de las cepas de *S. aureus* produce hemolisina δ . Esta toxina es capaz de hidrolizar eritrocitos y otras células, así como estructuras subcelulares rodeadas por membrana. Tiene actividad dermonecrotica, y se ha propuesto que actúa como un surfactante disgregando la membrana celular.^{1,4}

Toxina gamma (γ) o γ -hemolisina: es producida por todas las cepas de *S. aureus*, afecta a neutrófilos, macrófagos y a una gran variedad de eritrocitos de mamíferos (humano, oveja, conejo) y no es identificable en agar sangre.^{1,4}

Leucocidina de Pantone-Valentine (PVL): es producida por menos del 5 % de las cepas de *S. aureus*. La leucocidina es citotóxica para los monocitos, macrófagos y leucocitos polimorfonucleares del humano. Es una proteína que forma poros en la membrana plasmática de los leucocitos, lo cual provoca un aumento en la permeabilidad y eventualmente produce la lisis celular. La lisis de los leucocitos produce la liberación de mediadores de la inflamación, con una consecuente respuesta inmunitaria grave.⁴

Toxinas exfoliativas A y B: el síndrome estafilocócico de la piel escaldada esta mediado por la acción de estas toxinas. Las toxinas no guardan relación con lisis celular o inflamación. La exposición a la toxina provoca división de los puentes intercelulares en la capa granulosa de la epidermis externa. A pesar de tener el mismo tamaño molecular ambas toxinas, la toxina A es termoestable y es codificada genéticamente a nivel cromosómico, mientras que la B es termolábil y es codificada por un plásmido.¹

Toxina 1 del síndrome del choque tóxico (TSST-1): llamada anteriormente exotoxina C pirógena o enterotoxina F; es el prototipo de un superantígeno estimulando la liberación de varias citocinas, prostaglandinas y leucotrienos, los cuales producen los signos y síntomas del síndrome.



Es una toxina secretada durante el crecimiento de *S. aureus*, es codificada genéticamente por el cromosoma bacteriano, es termoestable y proteolítica. Suprime la quimiotaxis de neutrófilos, induce la función supresora de los linfocitos T y bloquea al sistema reticuloendotelial. ^{1,4}

Enterotoxinas: de 30 a 50 % de las cepas de *S. aureus* las producen. Su principal función in vivo es inhibir la respuesta inmune del huésped. Son superantígenos. Resistentes a la hidrólisis por las enzimas gástricas y yeyunales, se muestran estables al calentamiento hasta 100 °C durante 30 minutos. Son causa de intoxicación alimentaria.

El gen para la producción de las enterotoxinas puede situarse en el cromosoma o en un plásmido. Las enterotoxinas A y D se relacionan a menudo con enfermedad.

La B guarda relación con la enterocolitis pseudomembranosa estafilocócica.

Las enterotoxinas B y C están implicadas en el choque tóxico no menstrual.

La C y D se encuentran en productos lácteos contaminados.

Estas enterotoxinas y la TSST-1 son inductores potentes de interleucina 1. ¹

1.5 Propiedades fisiológicas

1.5.1 Características macroscópicas

Este microorganismo se reproduce fácilmente en laboratorio previa siembra en caldo o agar nutritivo. Crecen en medios químicamente definidos, los cuales contienen glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico. ^{5,6}

Su crecimiento en agar sangre es abundante y hace posible poner de manifiesto hemolisinas estafilocócicas como la α , β , γ y δ . ⁶ En medios suplementados crece bien en rangos de pH de 4.8 a 9.4.

La incorporación de 6.5 a 8 % de cloruro de sodio a los medios de cultivo permite su desarrollo, a la vez que inhibe el crecimiento de otras bacterias. ⁶

S. aureus comúnmente forma colonias grandes (6.0 a 8.0 mm de diámetro), redondas, lisas, prominentes y traslúcidas; de color amarillo cremoso a naranja. Algunas cepas con cápsulas relativamente grandes, producen colonias muy pequeñas y más convexas que las no capsuladas teniendo un aspecto húmedo y brillante. ^{1,3}



En agar sangre (G.S.) y Baird Parker, las colonias suelen rodearse por halos transparentes, debido a la producción de hemolisinas –en agar sangre.- (Ver figura 3) y de lecitinasa- en el segundo medio.

En manitol sal agar (MSA), las colonias se rodean por halos amarillos, debido a que suele ocurrir fermentación del manitol, y el indicador rojo de fenol adquiere ésta coloración por disminución del pH. En agar S110, tras 48 horas de incubación a temperatura ambiente, las colonias manifiestan un color amarillo dorado, al producir un pigmento lipofílico-no hidrosoluble, constituido por derivados de la xantina.⁶



Figura 3. Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus* en el medio de cultivo agar sangre.

1.5.2 Condiciones de incubación

Este microorganismo desarrolla en un amplio rango de temperatura (10 a 40 ° C), aunque su crecimiento óptimo se obtiene en 37° C. Es importante precisar que su pigmentación característica se debe a la producción de carotenoides, la cual se produce mejor a temperatura ambiente (20 a 25 ° C).^{3, 5, 6} En 18 a 24 horas y a una presión atmosférica de aerobiosis se obtiene un desarrollo abundante.⁶

1.5.3 Resistencia a agentes físicos, químicos y/o biológicos

S. aureus es muy resistente a diversos agentes, pudiendo sobrevivir a numerosas condiciones ambientales desfavorables. Resiste la luz, temperaturas externas extremas y desecación, lo que permite su transmisión en el polvo. Además, permanecen viables durante varias semanas en el pus desecado y esputo.

Resiste la acción de fenoles, desinfectantes diversos (cloruro de magnesio, cloruro de benzalconio, etc.).



Su resistencia a penicilina suele depender de su capacidad para producir β -lactamasas, propiedad transmitida por conjugación o transducción implicando la presencia de plásmidos de resistencia.⁶

1.6 Epidemiología de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es el agente etiológico de diversas patologías, incluyendo infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemia, endocarditis, infección del SNC y del tracto genitourinario.

Por su ubicuidad y en función de los procedimientos médicos y uso de antimicrobianos, se confiere especial énfasis al aislamiento y estudio epidemiológico de *S. aureus*, considerando su rol primordial en las infecciones nosocomiales.¹⁵

El principal reservorio de *S. aureus* es el ser humano, hallándose en portadores sanos, el hábitat básico es la nariz (parte anterior de las narinas), y cerca del 30 % de los individuos portan el microorganismo en este sitio en algún momento.^{1,2}

La colonización se puede asentar sobre la mucosa nasal, orofaringe, epidermis íntegra, úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de portadores de sonda.²

Por tanto, los portadores nasal y cutáneo son los reservorios primarios de *S. aureus* y tienen participación importante en la epidemiología y patogenia de la infección.

Las narinas son colonizadas densamente y suele persistir durante años en 10 y 20 % de las personas afectadas. Entre 25 y 50 % de los portadores nasales también llevan el organismo en manos y piel.

Los pacientes que portan *S. aureus* en las narinas antes de ser sometidos a cirugía, tienen mayor probabilidad de desarrollar infecciones en el sitio quirúrgico que aquellos que no portan este microorganismo. Después de traumatismos craneales, los portadores nasales de *S. aureus* tienen mayor probabilidad de desarrollar neumonía por este agente que los no portadores.

Estudios han demostrado que las narinas son la zona anatómica en la cual el microorganismo puede aislarse en forma constante; cuando se trata a las narinas con un antimicrobiano tópico para eliminar el estado del portador, en la



mayor parte de los casos *S. aureus* también desaparece de otras zonas del cuerpo.

Es posible distinguir tres patrones de portador:

- Persistente: cerca del 20 % de los individuos casi siempre portan un tipo de cepa.
- Intermitente: cerca del 60 % de los individuos portan cepas que cambian y tienen frecuencia variable.
- No portadores: cerca del 20 % de los individuos casi nunca porta la cepa.

El portador persistente es más frecuente en niños que en adultos, y muchos individuos cambian su variante de portador entre los 10 y 20 años.

El estado de portador nasal se ha identificado como factor de riesgo para el desarrollo de infección en varias entidades clínicas.

En teoría la eliminación de un portador nasal reduce la frecuencia de infección en las poblaciones en las cuales se ha identificado un factor de riesgo.

Los estafilococos son responsables de infecciones esporádicas, así como de epidemias, que abarcan desde brotes intrafamiliares pequeños hasta brotes nosocomiales grandes.^{1,4}

Staphylococcus aureus coloniza piel y mucosas de 30 a 50 % de los adultos y niños sanos y ocupa el segundo lugar como causa de accesos de bacteriemia nosocomial.

Es el origen más frecuente de neumonía nosocomial. El periodo de incubación en las infecciones estafilocócicas es variable.

Las principales fuentes de infección son: contacto con personas infectadas, contacto con portadores asintomáticos, contacto con fómites contaminados y vía aérea.

1.6.1 Patología

La piel y las mucosas intactas son las barreras de defensa más importantes contra el establecimiento de la infección estafilocócica. Asimismo las quemaduras, varicela, infecciones herpéticas, eccema, epidermólisis bulosa, heridas quirúrgicas, entre otras, son enfermedades que el estafilococo aprovecha para su ingreso. En pacientes hospitalizados, las punciones intravenosas y los catéteres son origen de infección estafilocócica.

Los cuerpos extraños reducen la resistencia local para el establecimiento y son importantes en la patogenia y perpetuación de la infección. *S. aureus* tiene



muchos receptores de superficie que le permiten unirse a los tejidos y cuerpos extraños cubiertos con fibronectina, fibrinógeno y colágena, lo que posibilita que un inóculo bajo de microorganismos se adhiera a suturas, prótesis valvulares cardíacas, derivaciones de líquido cefalorraquídeo, prótesis ortopédicas y vasculares, incluso derivaciones arteriovenosas para hemodiálisis.

Una vez que se establece la infección, una respuesta óptima de polimorfonucleares resulta esencial para contener la infección y eliminar a los microorganismos. Cualquier alteración en este mecanismo llevará a la implantación de una afección estafilocócica.

Hay pruebas epidemiológicas de que las cepas de *S. aureus* difieren en grado considerable en infectividad y virulencia. En general, las cepas de *S. aureus* son de baja infectividad, a menos que las condiciones locales provean oportunidades especiales para la multiplicación en el cuerpo. Los estafilococos coagulasa positiva pueden causar enfermedad por dos mecanismos:

- **Invasión directa:** se produce una reacción inflamatoria aguda, iniciada por los productos microbianos por el daño hístico y actividad leucocitaria. La capacidad patogénica de una cepa de *S. aureus* es un efecto combinado de factores extracelulares y toxinas. La lesión tiende a ser circunscrita, en parte por el depósito de fibrina a través de la acción de la coagulasa estafilocócica. El microorganismo puede multiplicarse dentro del leucocito y destruirlo, en suma, varios mecanismos incluso la producción de proteína A, sirven para protegerse de la fagocitosis. La alfa-hemolisina y la reacción de hipersensibilidad retardada a las proteínas estafilocócicas contribuyen a la necrosis en las lesiones. De una lesión local, el estafilococo positivo a coagulasa puede diseminarse por vía hematógena a sitios distantes, para alcanzar huesos, articulaciones y otras estructuras importantes.
- **Liberación de toxinas:** los estafilococos también causan enfermedad a través de tóxicos que elaboran, sin que haya infección invasora evidente. Entre las enfermedades estafilocócicas toxigénicas figuran el síndrome de la piel escaldada, el síndrome del choque tóxico y la intoxicación alimentaria.



1.6.2 Infecciones por *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es causa de una gran variedad de procesos infecciosos que causa tres síndromes básicos:

a) Infecciones cutáneas o circunscritos

Impétigo: es una infección superficial que afecta fundamentalmente a los niños pequeños, se presenta fundamentalmente en la cara y extremidades. Comienza con una pápula eritematosa que puede tener un estadio vesicular o transitorio.^{1, 28, 29}

Foliculitis: infección que se desarrolla en los folículos pilosos, glándula sebácea o sudorípara. Cuando ocurre en la base de los párpados se llama orzuelo.^{1,28} Cuando avanza el proceso inflamatorio, la piel se vuelve sensible, tensa y brillante. En general no hay datos sistémicos. En ocasiones suele ser una complicación de acné vulgar.

Forúnculos: es el prototipo y la lesión más común producida por este microorganismo, es un absceso superficial circunscrito y de evolución aguda.^{1,29}

Carbunco: la infección puede provenir de un furúnculo, que se extiende a tejidos subcutáneos. Son lesiones graves que pueden redundar en invasión al torrente sanguíneo y están vinculados con fiebre y signos de enfermedad sistémica.^{1,28,29}

Paroniquia: es una infección común la cual implica los tejidos blandos alrededor de las uñas.¹

Abscesos mamarios: es relativamente frecuente en recién nacidos. Suelen ser unilaterales y se observan dentro de las dos primeras semanas de vida. El dato más relevante consiste en eritema intenso e induración de la glándula mamaria afectada.¹

Infecciones de heridas: El origen puede ser el mismo paciente que es portador.¹ Pueden ocurrir en el paciente después de una intervención quirúrgica o de un traumatismo, al introducirse en la herida los microorganismos que colonizan la piel. Los estafilococos generalmente no son capaces de producir una infección en un individuo inmunocompetente a no ser que haya un cuerpo extraño en la herida.²⁹ Las heridas quirúrgicas infectadas pueden funcionar como focos de infecciones sistémicas.²⁸



b) Infecciones profundas y sistémicas

Bacteriemia: es rara la bacteriemia por estafilococos en ausencia de un foco de infección. La bacteriemia deriva de un foco de infección no evidente, durante el curso de una infección primaria de piel, del aparato respiratorio o por otros procedimientos lesivos.¹ Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus* en especial los episodios prolongados, se asocian con la diseminación a otras partes del organismo dando origen a endocarditis, osteomielitis y la formación de abscesos metastáticos, particularmente en la piel, los tejidos subcutáneos, los pulmones, los riñones, el hígado y el cerebro.^{28,29}

Endocarditis: *S. aureus* es causa de endocarditis en 16 a 45 % de los casos; por lo común, ocurre dentro de los 60 días que siguen a la operación. Los pacientes se observan gravemente enfermos, están febriles y letárgicos y la enfermedad avanza con rapidez. Son frecuentes los datos de descompensación cardíaca mientras que los cambios clásicos de endocarditis (anemia, esplenomegalia, petequias, hemorragias) pueden notarse al principio de la enfermedad.¹ Presenta una tasa de mortalidad del 50 %, a no ser que se instituya un tratamiento médico y quirúrgico adecuado de forma inmediata. La curación clínica del paciente es la regla, aunque es común que existan complicaciones.²⁹

Neumonía: se presenta en cualquier grupo de edad, principalmente en la etapa pediátrica. Es un proceso de rápido avance. Tiene dos formas i) neumonía primaria por inoculación directa a través del aparato respiratorio y ii) neumonía secundaria, originada por vía hematógena (bacteriemia).¹

Osteomielitis: puede resultar de la diseminación hematógena en el hueso tanto en niños como en adultos, o como infección secundaria como consecuencia de un traumatismo, una infección quirúrgica o de la extensión de una infección desde una zona adyacente. *S. aureus* es la principal causa de artritis séptica en niños pequeños y en adultos que reciben inyecciones intraarticulares. La afectación secundaria de múltiples articulaciones indica la diseminación hematógena desde un foco localizado. La infección se demuestra generalmente en las grandes articulaciones (hombro, rodilla, cadera y codo). El pronóstico en niños es excelente, pero en adultos



depende de la naturaleza de la enfermedad subyacente, así como la aparición de complicaciones infecciosas secundarias.^{1,29}

Meningitis estafilocócica: aparece en pacientes con anormalidades del sistema nervioso central relacionados con traumatismos, cirugía, tumores malignos, e hidrocefalia¹. *S. aureus* es una de las causas más frecuentes asociada con derivaciones ventriculoperitoneales; también es uno de los microorganismos asociados con peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria continua²⁸ además de ser causante de infecciones del tracto urinario.

c) Síndrome toxémicos

Síndrome del choque tóxico SCT (“toxic shock syndrome” TSS, siglas en inglés): es una enfermedad grave causada por *S. aureus* se debe a la toxina 1 del síndrome de choque tóxico (T1-SCT) La mayor parte de estas cepas produce también por lo menos una de las enterotoxinas estafilocócicas.^{1,6} La TSST-1 fue la primera toxina identificada como un marcador para TSS. El síndrome de choque tóxico fue descrito por primera vez en 1978.^{1,28} El síndrome de choque tóxico puede ser menstrual (por coincidir con el periodo menstrual) y está asociado con el uso de tampones, o bien ser no menstrual en cuyo caso como la celulitis, infecciones posparto, vaginales o como una complicación de los abscesos estafilocócicos.^{4,28} Es una enfermedad multisistémica que se inicia con el crecimiento localizado de las cepas de *S. aureus* productoras de la toxina en la vagina o en la herida, seguido de la liberación de la toxina al torrente circulatorio. Las manifestaciones clínicas comienzan de forma brusca y consisten en fiebre alta, hipotensión, exantema eritematoso difuso, descamación de la piel después de 1 a 2 semanas del ataque (antes de este tiempo es fatal) e implicación de tres o más sistemas (gastrointestinal, muscular, renal, hepático, hematológico y nervioso central).^{1,4,28,29} En adultos puede producir síndrome de dificultad respiratoria, coagulación intravascular y falla renal.^{4,28} La muerte en los pacientes con TSS se produce por un choque hipovolémico que lleva a un fallo multiorgánico. La alta tasa inicial de fallecimientos ha disminuido al conocerse mejor la epidemiología y etiología de esta enfermedad.²⁹



Síndrome de piel escaldada estafilocócica (“staphylococcal scalded-skin syndrome”, SSSS) o Enfermedad de Ritter: es una enfermedad de la piel causada por las toxinas exfoliativas A y B de *S. aureus*. Es una enfermedad de neonatos y lactantes. El cuadro clínico varía desde ampollas bien delimitadas hasta una descamación grave que afecta 90 % de la superficie corporal total.^{1,6} Se caracteriza por el inicio brusco de un eritema perioral localizado (enrojecimiento e inflamación alrededor de la boca) que se extiende por todo el cuerpo en los dos días siguientes y poco después se forman grandes ampollas y vesículas cutáneas que tienen por consecuencia la descamación del epitelio. El epitelio vuelve a estar intacto en 7-10 días, cuando aparecen los anticuerpos protectores. La tasa de mortalidad es baja, cuando ocurre la muerte es el resultado de una infección bacteriana secundaria.^{6,29} (Ver figura 4)



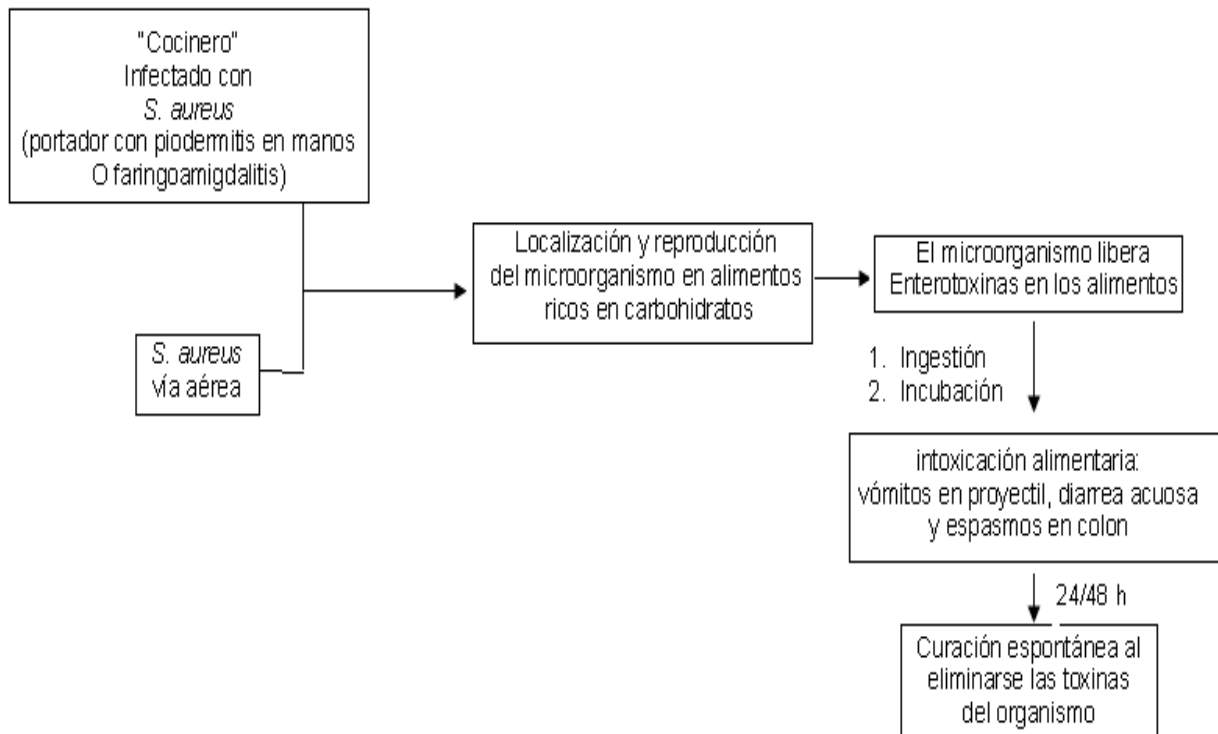
Figura 4. Síndrome de piel escaldada estafilocócica en niño de 2 años.

Intoxicación estafilocócica por alimentos (“staphylococcal food poisoning” SFP): resulta de la ingestión de una o más enterotoxinas preformadas en alimentos contaminados con *S. aureus*. La ingestión no resulta en medida enterotoxémica al menos que se consuman altas dosis. Los estafilococos ingeridos después del tiempo de incubación, no producen más toxina, por lo que la enfermedad típicamente se resuelve dentro de las 24 a 48 horas del ataque y sólo requiere de tratamiento de sostén.^{6, 29, 30} Algunas cepas de *S. aureus* pueden producir también enterocolitis y ocurre fundamentalmente en pacientes que han recibido antibióticos de amplio



espectro, que suprimen la flora normal del colon y permiten el crecimiento del microorganismo.²⁹ (Ver diagrama 2)

Diagrama 2. Principales aspectos asociados a la intoxicación alimentaria estafilocócica



Alimentos ricos en carbohidratos como pastas, pasteles, ensaladas; las enterotoxinas A y D son las más frecuentes y agresivas.



1.7 Aspectos generales de la resistencia bacteriana

Los antimicrobianos en medicina se utilizan con tanta libertad y diferentes situaciones clínicas, no siempre justificadas, que es necesario racionalizar con criterio la anarquía existente.

Un hecho fundamental es el abuso que se hace de los antimicrobianos, sobre todo en procesos que no tiene una base infecciosa. Lo anterior ha propiciado alteración en el equilibrio de la flora normal, aparición de cepas resistentes, selección de clonas bacterianas que emergen como “nuevos patógenos”, muchos de los cuales fueron con anterioridad considerados como parte de la flora normal y que en la actualidad representan el mayor problema clínico ⁷, tal es el caso de *Staphylococcus aureus*.

En la actualidad es de gran interés el aumento de la resistencia a la meticilina en esta especie bacteriana, conociéndose a estas cepas como *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (MRSA); esta bacteria ha llegado a convertirse en un gran problema epidemiológico comunitario y nosocomial. Más aun cuando se tiene evidencia de que algunos aislamientos MRSA pueden ser resistentes a otros antibióticos como son las tetraciclinas, cloranfenicol, lincosamidas, macrólidos, aminoglucósidos e incluso las quinolonas.

Por otro lado, la importancia de *Staphylococcus aureus*, en especial de las cepas MRSA, radica en la capacidad de producir colonizaciones intermitentes (niños, 10 -40 % y adultos, 30 %); siendo el sitio más común, la cavidad nasal, las cuales pueden progresar a infecciones con distintos grados de severidad.¹⁸

En un proceso infectivo normal resultan determinantes la cantidad de bacterias participantes, el tiempo de generación bacteriana y la velocidad intrínseca de mutación. Se dice que las bacterias tienen una “resistencia intrínseca” a un antibiótico cuando sus características normales las vuelven inmunes al mecanismo de efecto del antibiótico. Por el contrario, las bacterias pueden adquirir resistencia a un antibiótico, adoptando una nueva característica a través de la mutación de genes o de la transferencia de material genético entre las bacterias. Cuando una mutación confiere resistencia al antibiótico, solo las células mutantes sobreviven y se convierten en la variante dominante de la población infectiva.³²

Un agente bacteriano puede adquirir resistencia a los antibióticos experimentando mutaciones puntuales en su DNA cromosómico y, más



frecuentemente, fungiendo como receptor de plásmidos R (resistencia). En cualquier forma, sus nuevas secuencias nucleotídicas le aportan la capacidad de inactivar antibióticos, a través de uno o más de los siguientes procesos:

- **Expulsión del antibiótico:** para que los antibióticos puedan manifestar su efecto antibacteriano en lapsos razonables, es necesario que alcancen concentraciones suficientes en sus respectivos sitios de acción. Por ejemplo, las bacterias Gram positivas que han adquirido resistencia a las tetraciclinas suelen sobreproducir proteínas de membrana (42 kDa), que funcionan como bombas de reflujo del antibiótico; donde éste es expulsado a velocidades mayores que las relacionadas con su previa difusión hacia el interior; por lo que, no alcanzan proporciones intra-microbianas que afecten significativamente la bacteria.⁶
- **Inactivación por modificación del fármaco:** el prototipo de este mecanismo alude a la escisión hidrolítica del anillo β -lactámico de las penicilinas y cefalosporinas, vía la acción de β -lactamasas bacterianas. El anillo lactámico de 4 miembros representa la parte activa de la molécula y su modificación reditúa en una estructura abierta (ácido peniciloico) que no es reconocida por sus receptores. Los aminoglucósidos pueden ser inactivados por al menos 3 clases de enzimas, las cuales agregan diferentes sustituyentes a la molécula original, redituando en estructuras incapaces de reconocer su sitio de acción.⁶
- **Modificación estructural del “blanco de acción”:** un ejemplo típico de esta estrategia implica a ciertas especies resistentes a eritromicina, las cuales monometilan o dimetilan un residuo específico de adenina, dicha modificación es catalizada por la enzima Erm, una metil transferasa que disminuye la afinidad de macrólidos y estreptograminas por el RNA.⁸
- **Tolerancia:** implica inhibición del crecimiento que puede atribuirse a falta de activación de las enzimas autolíticas en la pared celular.¹

En la actualidad las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes.



1.8 Resistencia a antimicrobianos en *Staphylococcus aureus*

1.8.1 Antibióticos β -lactámicos: generalidades, estructura química, clasificación y mecanismo de acción.

Tras 70 años de uso clínico, que se iniciaron con la administración de penicilina a un paciente con sepsis estafilocócica en 1941, los beta-lactámicos son los antimicrobianos más prescritos tanto en atención primaria como en hospitales. A pesar de que no se dispone de ningún beta-lactámico realmente nuevo desde hace más de dos décadas, el aumento incesante de las resistencias y los avances en el conocimiento de sus mecanismos moleculares han condicionado que exista una gran cantidad de información.⁹

La penicilina fue aislada del *Penicillium notatum* por Fleming, en 1929. Este aislamiento fortuito proporcionó frutos hasta los trabajos de Florey en 1941, e hizo posible la producción comercial de penicilina G. En 1928, Fleming encontró que el hongo *Penicillium* producía una sustancia que denominó Penicilina, la cual inhibía el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

La estructura básica de la mayoría de las penicilinas comerciales consiste en un núcleo formado por tres componentes: un ciclo de tiazolidina y el anillo beta-lactámico formando el ácido 6-aminopenicilánico, estructura que deriva de la condensación de una molécula de valina y de una cisteína para dar lugar al anillo característico, finalmente la cadena lateral en la posición 6, determina en gran medida el espectro antibacteriano y las propiedades farmacológicas de cada penicilina en particular.^{7,9,12}

En resumen, la presencia de un anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las betalactamasas.⁹ (Ver cuadro 2)

Las cefalosporinas son fármacos estructuralmente similares a las penicilinas, cuya estructura básica está constituida por el núcleo cefem, que consiste en la fusión de un anillo dihidrotiacínico (en lugar del anillo tiazolidínico característico de las penicilinas) y un anillo betalactámico. La introducción de modificaciones de las cadenas laterales origina las diversas cefalosporinas.^{7, 9,12}

Actualmente, únicamente se emplean en clínica inhibidores de las beta-lactamasas de estructura química beta-lactámica. (Ver cuadro 3)



Cuadro 2. Clasificación de antibióticos betalactámicos ⁹

Grupo	Vía de administración	
	Parenteral	Oral
<i>Penicilinas</i>		
Sensibles a las betalactamasas		
Espectro reducido	Bencilpenicilina	Fenoxibencilpenicilina
Activas frente a enterobacterias	Ampicilina	Amoxicilina, ampicilina
Activas frente a enterobacterias y <i>Pseudomonas</i>	Carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina, azlocilina, piperacilina	Indanil-carbenicilina
Resistentes a las betalactamasas		
Antiestafilocócicas	Meticilina, oxacilina, nafcilina	Cloxacilina, dicloxacilina
Combinadas con inhibidores de las betalactamasas	Ticarcilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, amoxicilina-ácido clavulánico	Amoxicilina-ácido clavulánico
<i>Cefalosporinas</i>		
Primera generación	Cefazolina, cefalotina, cefradina	Cefalexina, cefradina, cefadroxilo
Segunda generación		
Activas frente a <i>Haemophilus</i>	Cefamandol, cefuroxima, cefonicida, ceforanida	Cefaclor, axetil cefuroxima, cefprozilo
Activas frente a <i>Bacteroides</i>	Cefoxitina, cefotetán, cefmetazol	
Tercera generación		
Espectro ampliado	Ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima	Ceftibuteno, cefdinir, cefixima, cefpodoxima
Espectro ampliado y anti- <i>Pseudomonas</i>	Ceftacidima, cefoperazona, cefepima	Ninguna
<i>Carbapenémicos</i>	Imipenem-cilastatina, meropenem, ertapenem	Ninguno
<i>Monobactámicos</i>	Aztreonam	Ninguno

Cuadro 3. Estructura química de los betalactámicos ⁹

NÚCLEO DEL ANTIBIÓTICO BETA-LACTÁMICO	GRUPO ANTIBIÓTICO
<p>6-α-penicilánico</p>	Penicilinas
<p>7-α-cefalosporánico</p>	Cefalosporinas



Mecanismo de acción: solo actúan sobre bacterias en la fase de crecimiento que están sintetizando peptidoglucano ^{9,13}. Los antibióticos beta-lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de síntesis del peptidoglucano.

El peptidoglucano está constituido por largas cadenas de glúcidos (-glucano), formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos que se unen entre sí para formar una malla, bien directamente (Gram negativos) o mediante un pentapéptido de glicina (Gram positivos). Los betalactámicos inhiben precisamente esta unión de transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular.

De este modo la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Los componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplasmática al espacio que existe entre esta y la pared celular. A este nivel existen unas proteínas con actividad enzimática (transpeptidasas y carboxipeptidasas), que son las encargadas de formar los tetrapéptidos unidos. Estas enzimas fijan las penicilinas y otros betalactámicos, por lo que se llaman proteínas fijadoras de penicilina (PBP, siglas en inglés de penicillin-binding proteins o PFP por sus siglas en español). ^{8,10} Su función es alargar, dar forma y dividir a la bacteria. Los anillos betalactámicos poseen una estructura similar a los dos últimos aminoácidos del pentapéptido (D-alanina-D-alanina) y eso permite una unión covalente en el lugar activo de la transpeptidasa. ^{8,9,10,12}

Es importante mencionar que los beta-lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CIM de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CIM para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana. ⁹



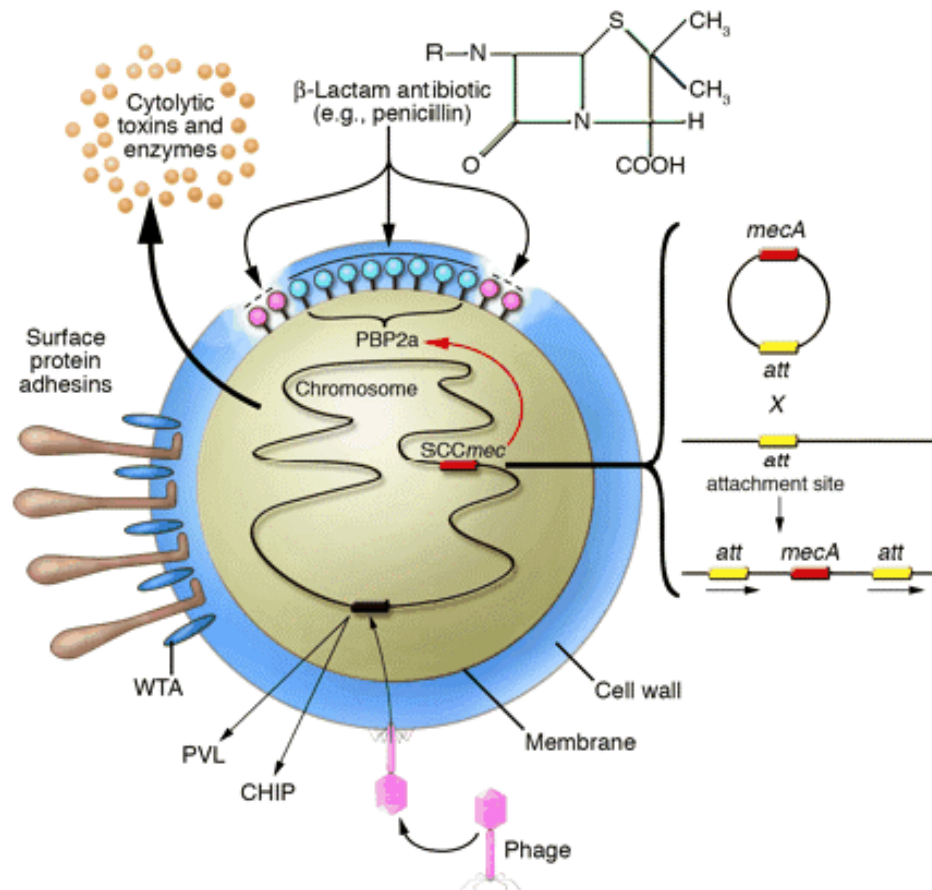
Mecanismos de resistencia de *Staphylococcus aureus* a antibióticos β -lactámicos

Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia de *S. aureus* a β -lactámicos:

- **Hiperproducción de β -lactamasa o resistencia borderline (borderline resistant *Staphylococcus aureus* – BORSA)** descrita inicialmente por McDougal. Su mecanismo es una hiperproducción de β -lactamasa estafilocócica normal, mediada por plásmidos. Estas cepas producen altas cantidades de enzimas, lo que hace que la oxacilina o meticilina, que fueron desarrolladas para resistir la acción hidrolítica de las β -lactamasas, sea lenta aunque apreciablemente degradadas, presentando una resistencia límite a oxacilina con CIM de 1-2 $\mu\text{g/mL}$. Esta resistencia se encuentra avalada por la ausencia de PBP'2 en su pared celular. Las cepas hiperproductoras de β -lactamasas pertenecen casi exclusivamente al fagogrupo 94/96 y poseen un plásmido común de β -lactamasa estafilocócica del tipo A se cree que la acción de la resistencia no es solo debida a la hiperproducción, sino también a una nueva β -lactamasa cuyo gen no se ha encontrado aún.^{14,15}
- **Modificación de PBPs:** descrito por Tomasz y sus colaboradores, corresponde a una modificación mínima (modified *S. aureus* MODSA), de las PBPs 1, 2 y 4 de peso molecular normal pero con baja afinidad para antibióticos β -lactámicos.¹⁵
- **Resistencia intrínseca a meticilina u oxacilina:** este tipo de resistencia se debe a la incorporación en el ADN bacteriano de un gen, el *mecA*. Este gen es un fragmento de DNA cromosomal adicional de 30 a 50 Kb, que posee dos elementos regulatorios (*mecR1* y *mec I*) que controlan la transcripción del gen *mecA*.¹⁵ (Ver figura 5)



Figura 5. Localización celular de cada uno de los componentes que intervienen en el mecanismo de resistencia a meticilina por medio del gen *mecA*.



Mecanismos de resistencia a través de β-lactamasas

Kirby, fue el primero en demostrar que la penicilina se inactiva por cepas resistentes a la penicilina de *S. aureus*. Bondi y Dietz identificaron posteriormente el papel específico de β-lactamasas. Actualmente, más del 90% de los aislamientos de estafilococos producen β-lactamasas.

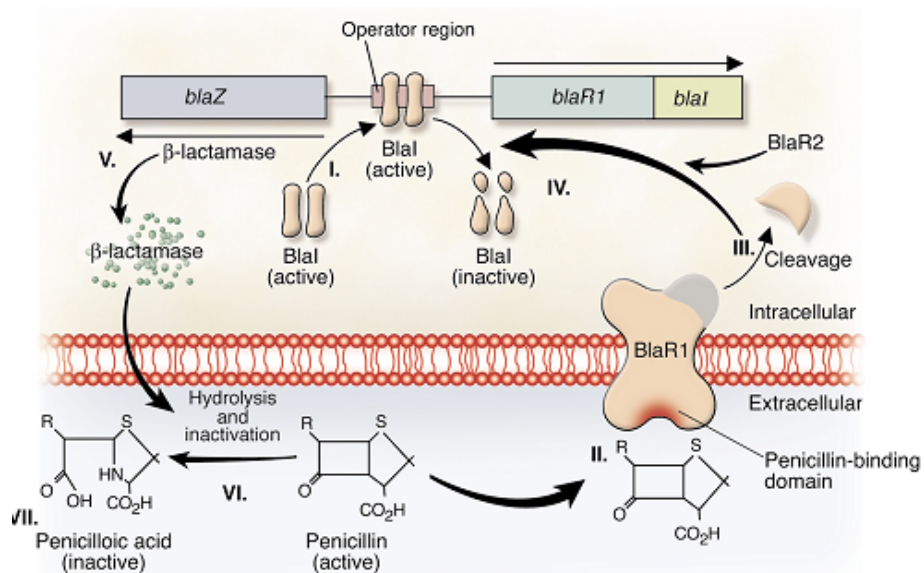
El gen de la β-lactamasas es parte de un elemento transponible situado en un plásmido grande, a menudo con otros genes de resistencia a los antimicrobianos.

La resistencia a la penicilina es mediada por Blaz, el gen que codifica β-lactamasas. Este es una enzima extracelular sintetizada en los estafilococos cuando son expuestos a los antibióticos β-lactámicos, se encarga de hidrolizar el anillo de los antibióticos β-lactámicos, causando la inactivación de los mismos.



Blaz está bajo el control de dos genes reguladores adyacentes, el antirepresor blaR1 y el represor Blai. Estudios recientes han demostrado que la vía de señalización responsable para la síntesis de β -lactamasas requiere la escisión secuencial de las proteínas reguladoras BlaR1 y Blai. La hipótesis es que la proteína actúa como proteasa que escinde el represor Blai, directa o indirectamente y permite a Blaz sintetizar la enzima.¹¹ (Ver figura 6)

Figura 6. Inducción de la síntesis de β -lactamasas estafilocócicas en la presencia de β -lactámicos¹¹



La proteína de unión al ADN Blai se une a la región del operador, por lo tanto la represión de ARN permite la transcripción de *Blaz* y *blaR1*- Blai. En ausencia de penicilina, las β -lactamasas se expresan en niveles bajos. II. Cuando se estimula BlaR1 trasciende una reacción autocatalítica. III-IV. La activación directa o indirecta de BlaR1, (a través de una segunda proteína, BlaR2) une Blai en fragmentos inactivos, lo que permite la transcripción de *Blaz* y *blaR1*. V-VII. La existencia de β -lactamasas y enzimas extracelulares codificadas por *Blaz* (V), hidrolizan el anillo β -lactámico de la penicilina (VI), de tal modo que la inactiva (VII).

La adquisición de esta resistencia se debe principalmente al intercambio de manera horizontal de genes que son transportados por elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones (Tn) y secuencias de inserción (IS). (Ver cuadro 4)



Cuadro 4. Principales antibióticos que han generado resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus* ⁴

Antibiótico	Genes de resistencia	Producto del gen	Mecanismo de resistencia	Localización
Penicilina	<i>blaZ</i>	β-lactamasa	Hidrólisis enzimática del núcleo β-láctamico	Plásmidos; Tn552
β-láctamicos	<i>mecA</i>	PBP2a	Afinidad reducida al antibiótico	Cromosoma SSCmec; Tn4291
Aminoglucósidos	<i>aacA-aphD</i>	Acetiltransferasa, Fosfotransferasa	Modificación por acetilación o fosforilación	Cromosoma; plásmidos; Tn4001, Tn5404, Tn5405
Macrólidos, lincosamidas	<i>ermA, ermB, ermC</i>	Metilasa	Metilación del rRNA 23S	Plásmidos; Tn554
Macrólidos, estreptograminas	<i>msrA, vha, vat, vatB,</i>	Acarreadores ABC, Acetiltransferasa	Bomba de expulsión. Modificación por acetilación	Plásmidos
Tetraciclinas	<i>tetK, tetL, tetM</i>	Sistemas clase K, L y M	Bombas de expulsión Protección ribosomal	Plásmidos, Tn916
Rifampicina	<i>Rif</i>	RNA polimerasa	Mutación en la subunidad β de la RNA polimerasa	Cromosoma
Ácido fusídico	<i>fusA, fusB</i>	Factor de elongación G	Alteración del factor de elongación G	Plásmidos
Quinolonas	<i>par, gyrA o gyrB</i>	Componente ParC de la topoisomerasa IV Componentes GyrA o GyrB de la girasa	Mutación en la subunidad A de la girasa y topoisomerasa IV	Cromosoma
Mupirocina	<i>mupA</i>	Isoleucil tRNA sintetasa	Producción de una Isoleucil tRNA sintetasa modificada	Plásmidos
Trimetoprim-sulfametoxazol	<i>dfrA, sulA</i>	Dehidrofolato reductasa (DHFR) Dehidropteroato sintasa	Afinidad reducida de la DHFR. Sobreproducción de ácido p-aminobenzoico	Cromosoma Cromosoma, Tn4003
Glicopéptidos	<i>Van</i>	Peptidoglicano alterado D-Ala-D-Lac	Se atrapa la vancomicina en la pared celular. Síntesis de un dipéptido que reduce la afinidad de la vancomicina	Cromosoma; Plásmidos; Tn1546
Oxazolidinonas	<i>Rrn</i>	rRNA 23S	Mutación en el dominio V del rRNA 23S, interfiere con la unión ribosomal	Cromosoma
Quinupristina-dalfopristina (Q-D)	Q: <i>ermA, ermB, ermC</i> D: <i>vat, vatB</i>	Metilasa ribosomal Acetiltransferasa	Reduce la afinidad a la subunidad ribosomal 23S. Modificación enzimática de la dalfopristina	Cromosoma; plásmidos Plásmidos
Cloramfenicol	<i>Cat</i>	rRNA 50S	Modificación por acetiltransferasa	Plásmidos
Fosfomicina	<i>fosB</i>	Glutación-S-Transferasa	Modificación en la síntesis de N-acetil murámico.	Plásmidos

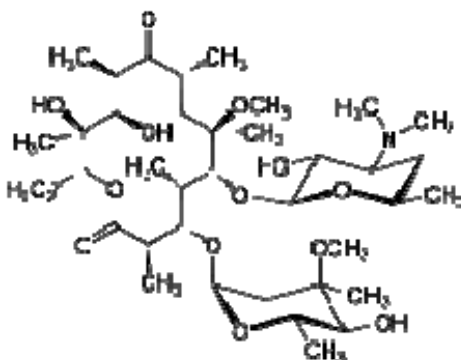


1.8.2 Macrólidos (claritromicina): generalidades, estructura química y mecanismo de acción.

Los macrólidos son antibióticos naturales o semisintéticos de carácter básico, bacteriostático o bactericida al bloquear la síntesis de proteínas bacterianas a nivel ribosomal. La claritromicina es un nuevo macrólido semisintético derivado de la eritromicina que tiene mejor estabilidad en pH ácido y no se degrada a hemiacetal ^{12, 16, 17}.

Se caracterizan por tener un anillo macrocíclico de lactona con 14 a 16 miembros, cuyo prototipo es la eritromicina ¹². (Ver figura 7)

Figura 7. Estructura química de claritromicina



Mecanismo de acción: se fija a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano e inhibe la síntesis proteica dependiente del RNA al bloquear la transpeptidación, la traslocación o ambas. ^{16,17}

1.8.3 Sulfonamidas: generalidades, estructura química, mecanismo de acción.

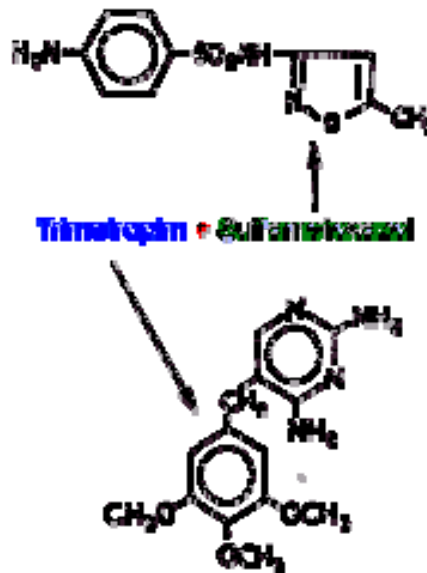
La era moderna de la terapéutica antiinfecciosa empezó en 1932, al utilizarse el prontosil por primera vez. El principio activo de este fármaco fue la sulfanilamida.

El trimetoprima es un 2,4-diamino-pirimidina (Ver figura 8) que inhibe la síntesis de las bases pirimídicas bacterianas. En la década de los 70s se demostró su efecto potenciador sobre diversas sulfonamidas y otros antibióticos. Su mejor sinergismo ocurre al combinarlo con sulfametoxazol. ¹²

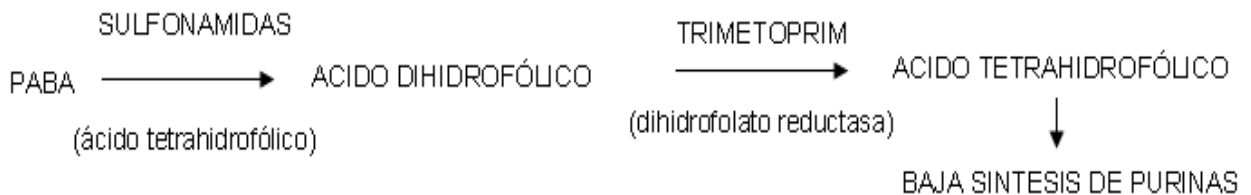
El trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) es la combinación de una proporción fija de diaminopirimidina (TMP) y una sulfonamida: el sulfametoxazol (SMZ). ¹⁶



Figura 8. Estructura química TMP-SZM



Mecanismo de acción: actúa a través del bloqueo de la síntesis del folato bacteriano. El sulfametoxazol, análogo del ácido paraaminobenzoico, inhibe la síntesis del ácido dehidrofólico. El trimetoprim bloquea la reductasa bacteriana del dehidrofolato e impide la reducción del ácido dehidrofólico hasta ácido tetrahidrofólico. Las intervenciones secuenciales en la síntesis microbiana del folato inhiben la síntesis de la timidina causando la lisis bacteriana.^{12,16,17}



Mecanismo de resistencia: una mutación bacteriana puede originar una sobreproducción de PABA (ácido p-aminobenzoico).¹²

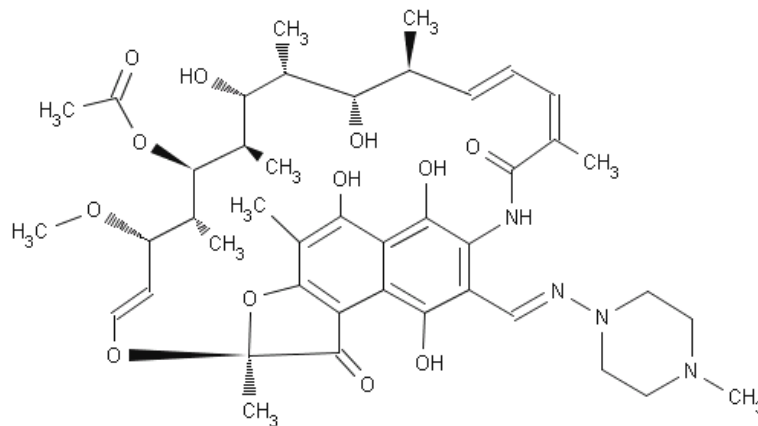


1.8.4 Rifampicina: generalidades, estructura química, mecanismo de acción.

La rifampicina es un antibiótico macrocíclico complejo semisintético, producido por el hongo *Streptomyces mediterraneus*, que se aisló por primera vez en 1957.

Se caracteriza por una estructura natural en forma de asa y es soluble en solventes orgánicos. Es importante señalar que esta estructura no se observa en otros antibióticos.¹² (Ver figura 9)

Figura 9. Estructura química de la rifampicina



Mecanismo de acción: ejerce un efecto bactericida y es de los pocos antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos y actúan uniéndose a la RNA polimerasa dependiente de ADN, y por tanto, inhibe la formación dependiente de ADN y la formación de todos los tipos de ARN en bacterias.

La polimerasa del ARN dependiente de ADN en las células de mamíferos no es inhibida. Su mecanismo de acción es único, no lo posee ningún otro antibiótico.^{10, 12, 13,16}

Mecanismos de resistencia: todos los microorganismos desarrollan rápidamente resistencia a este antibiótico por mutación cromosómica, tanto “in vitro” como “in vivo”, la cual consiste en modificación del receptor en la enzima ARN polimerasa.¹²

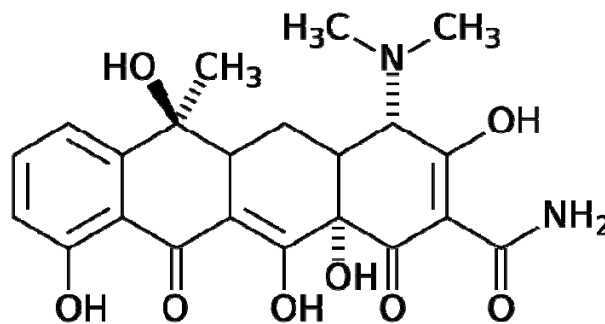


1.8.5 Tetraciclina: generalidades, estructura química, mecanismo de acción

Todas las tetraciclinas son antibióticos, fundamentalmente bacteriostáticos y de amplio espectro. Se dividen en tres grupos de acuerdo a sus diferencias farmacológicas: a) compuestos de acción corta; b) grupo intermedio y c) compuestos de acción prolongada y de más reciente producción.^{10,12,16}

Su estructura base consiste en 4 anillos conocidos como núcleo hidronaftaceno (Ver figura 10)

Figura 10. Estructura química de la tetraciclina



Mecanismo de acción: actúan sobre los microorganismos sensibles inhibiendo la biosíntesis proteica. Una característica es que aunque los ribosomas 70S son más sensibles, estos antibióticos también ejercen acción sobre ribosomas 80S. A nivel molecular las tetraciclinas inhiben la transcripción del mensaje genético al impedir la unión del aminoacil ARN de transporte (incluyendo el de iniciación el formal-metionina-ARN-transportador) con el sitio A (aceptor) de la subunidad 30S del ribosoma; no ejercen ningún efecto sobre el sitio P (donador) de dicha subunidad. Por lo tanto, impiden la iniciación de la cadena polipéptida.^{12,16}

Mecanismo de resistencia: las bacterias desarrollan resistencia a las tetraciclinas principalmente al prevenir la acumulación del antibiótico dentro de la célula. Es raro que el antibiótico sea inactivado biológicamente o alterado químicamente por bacterias resistentes y la resistencia a una tetraciclina implica resistencia a todas las demás. La adquisición de resistencia a tetraciclinas suele ser lenta, progresiva y por múltiples escalones. Se manifiesta sobretodo en estafilococos. El mecanismo bioquímico responsable conocido es la disminución o pérdida de permeabilidad celular.¹²



1.9 Resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*

En la actualidad las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes.

La introducción de la penicilina a principios de los años 40 como tratamiento de las infecciones causadas por *S. aureus* abatió de manera importante las enfermedades ocasionadas por este microorganismo. Sin embargo, un año después de su utilización ya se tenían cepas resistentes a penicilina.^{4,11} Para 1946, en Inglaterra se observó que aproximadamente un 60 % de los aislamientos de estafilococos fueron resistentes a la penicilina y para mediados de 1950, los aislamientos de *S. aureus* mostraron niveles más elevados de resistencia. Los primeros aislamientos de *S. aureus* multirresistentes fueron detectados en 1957. A principios de los 60's los estafilococos habían adquirido resistencia a la gran mayoría de antibióticos disponibles. Actualmente se reporta una resistencia a penicilina del 83-93 %, en cepas de *S. aureus* aisladas de hospitales y de comunidad.^{4,11,25}

Debido a la resistencia a la penicilina de las cepas de *S. aureus*, a finales de los años 50 se introdujeron las penicilinas estables a β -lactamasas y penicilinas semisintéticas. Entre estas estuvo la meticilina, como antibiótico de elección en el tratamiento de *S. aureus*. Este fármaco fue introducido en Europa en 1959 y un año después se detectó la primera cepa *S. aureus* meticilina resistente ("methicillin resistant *S. aureus* MRSA). En 1963, se reportó el primer brote nosocomial causado por cepas MRSA.^{4,19} Desde entonces se han notificado cepas multirresistentes en todo el mundo.

El Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (National Nosocomial Infectious Surveillance System, NNIS) de EUA determinó que en pacientes hospitalizados la prevalencia de cepas MRSA se incrementó del 4 % en 1980 a 31.9 % en 1996. En el 2001 se tenía un 55 % de prevalencia y para el 2004, llegó al 60.7 %. En algunos hospitales se han reportado incidencias de hasta el 80 %.^{4,19}

En la última década el número de infecciones de MRSA en los Estados Unidos ha aumentado perceptiblemente. Un informe del año 2007, "Enfermedades infecciosas que emergen", publicación de los Centros de Prevención y Control de Enfermedades (CDC), estimó que el número de las infecciones de MRSA en



hospitales se duplico, de aproximadamente 127,000 en 1999 a 278,000 en 2005, mientras que al mismo tiempo las muertes aumentaron de 11,000 a más de 17.000. Otro estudio realizado por CDC y publicado el 17 de octubre del 2007 en el *Diario de la asociación médica americana* estimó que MRSA ha sido responsable de 94,360 infecciones serias y se ha asociado a 18,650 muertes en el 2005.

Las enfermedades graves por MRSA siguen siendo relacionadas con la exposición en la asistencia sanitaria:

- Alrededor del 85% de todas las infecciones por MRSA se asociaron con la salud, y de esos, cerca de dos tercios se produjeron fuera del hospital, mientras que aproximadamente un tercio se produjo durante la hospitalización.
- Alrededor del 14% de todas las infecciones se produjeron en personas sin riesgos evidentes para la salud.

Aunque las tasas de la enfermedad varían entre los sitios geográficamente diversos, las tasas globales de la enfermedad fueron más consistentes entre las personas mayores (edad > 65), los negros, y hombres.³⁶

La evaluación de los patógenos causantes de las infecciones confirmó que la mayoría de las cepas asociadas con estas infecciones graves por MRSA fueron causadas por cepas tradicionalmente asociadas a la salud. Sin embargo, las cepas tradicionalmente asociadas con la transmisión en la comunidad están siendo identificadas en la asistencia sanitaria.³⁵

En México existe un número limitado de estudios sobre la prevalencia de cepas MRSA. De acuerdo a algunos estudios realizados, se ha observado que la prevalencia de cepas MRSA se ha incrementado rápidamente en hospitales durante los últimos años. Se estima que ha cambiado del 7 % al 30 %. En 1993, en el Hospital General de León, Guanajuato, se identifico una resistencia a la meticilina del 24 %. En el hospital Civil de Guadalajara, se obtuvieron resultados que indicaron un incremento en las cepas MRSA del 7 % en 1989 al 20 % en 1998. Sin embargo, en un estudio realizado en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, Siglo XXI-IMSS, se encontró que la frecuencia de cepas MRSA varió del 17 % al 23 % de 1997 al 2001. En 2002 bajó al 4 % y en 2003 se tenía un 0 %.

Esta disminución se debió probablemente a la implementación de un comité de infecciones en el hospital.⁴



Evaluaciones recientes han documentado una estabilización de esta tendencia, con sólo el 56% de las infecciones asociadas a dispositivos con *S. aureus* reportados como MRSA en 2006-2007.⁴⁰

La incidencia de MRSA en infecciones asociadas al torrente sanguíneo ha disminuido en un 50-70 % entre 2001-2007 según reportan diferentes unidades de cuidados intensivos.⁴¹

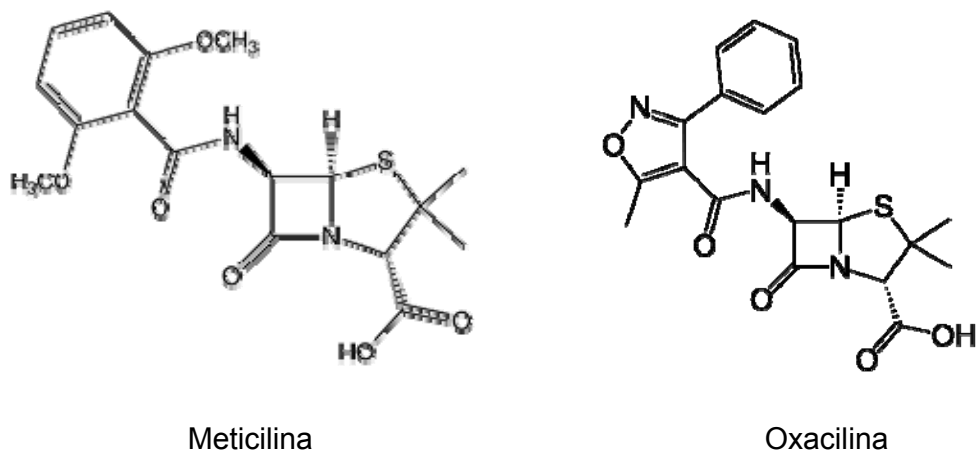
Un sistema independiente de seguimiento de las infecciones por MRSA demostró una reducción del 34% en la incidencia de estas infecciones entre los pacientes hospitalizados entre 2005 y 2008.⁴¹

1.9.1 Penicilinas semisintéticas

Las penicilinas resistentes a β -lactamasas (oxacilina, meticilina) poseen una estructura molecular que las protege frente a la acción de β -lactamasas (Ver figura 11). Sin embargo, el genero *Staphylococcus* ha desarrollado mecanismos mas complejos de resistencia frente a este grupo de antimicrobianos.²

La resistencia a meticilina se determina utilizando el antibiótico oxacilina, por lo que se ha sugerido que estas cepas deberían llamarse *S. aureus* resistentes a oxacilina (oxacillin-resistant *S. aureus*" ORSA), más que MRSA.⁴

Figura 11. Estructura química de la meticilina y oxacilina

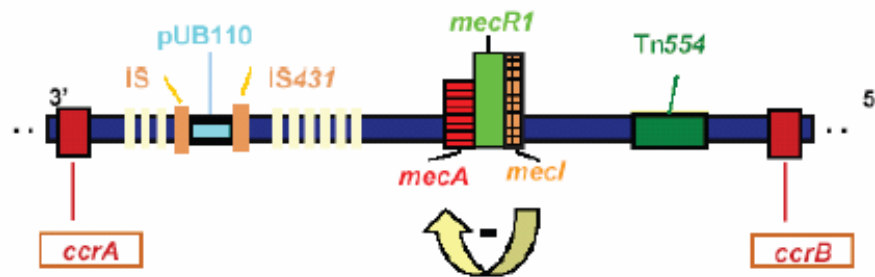


Antibióticos β -lactámicos pertenecientes a las penicilinas resistentes a β -lactamasas, que inhiben la síntesis de la pared celular.



El elemento central de la resistencia a la meticilina en *S. aureus* es la adquisición horizontal del gen *mecA*, el cual se encuentra en un elemento genético móvil grande conocido como casete cromosomal estafilocócico *mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec* SCC*mec*)^{4,11}, que se inserta en un sitio específico del cromosoma bacteriano, cerca del origen de replicación de *S. aureus*. Esta característica es de gran relevancia porque le permite replicarse en forma temprana y transcribir los genes de resistencia importados.²⁷ Este casete no es endógeno de esta bacteria y se encuentra integrado en el cromosoma. (Ver figura 12)

Figura 12. Representación de un fragmento de DNA cromosómico de MRSA



Región reguladora del gen *mecA* compuesta por los genes *mecl* y *mecR1*, plásmidos (Pub110), secuencias de inserción (IS431), transposones (Tn 554) y genes cromosómicos de las recombinasas (*ccrA* y *ccrB*)

El gen *mecA* codifica para una proteína de unión a la penicilina PBP de 78 kDa, llamada PBP'2a, (PBP2a, por la sigla en inglés de Penicillin binding protein 2a) la cual presenta baja afinidad para la meticilina y todos los antibióticos β -lactámicos que se han desarrollado.

La proteína PBP'2a continúa sintetizando peptidoglucano para la pared celular aun cuando las PBP normales estén inhibidas por los antibióticos.^{4, 11, 22, 23, 27}

Existen cuatro clases genéticas del complejo del gene *mec* (A-D). En *S. aureus* solo se han encontrado las clases A y B.⁴

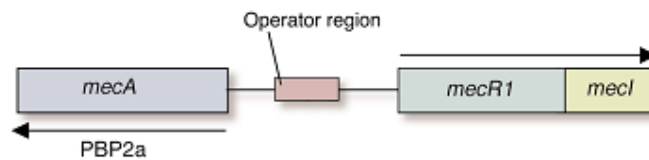
El mecanismo por el cual el gen *mecA* codifica para la síntesis de PBP'2a es el siguiente: La clase A, contiene dos genes intactos *mecl* y *mecR1*, así como el gen *mecA*. El gen *mec1* codifica una proteína represora de la transcripción: Mecl. El gen *mecR1* codifica una proteína de transducción de señal MecR1.



Las proteínas MecI y MecR1 regulan la transcripción inducible de *mecA* de la siguiente manera. MecR1 registra la presencia de antibióticos β -lactámicos con su dominio extracelular de unión a penicilina y activa su dominio citoplásmico en forma de proteasa, por rompimiento autocatalítico. Esta proteasa rompe la proteína represora MecI que se encuentra unida al sitio operador del gen *mecA*, liberando la represión de la transcripción, por lo que se lleva a cabo la expresión del gen *mecA* produciéndose la proteína PBP'2a. ^{4, 11, 22, 23, 27}

PBP'2a es una transpeptidasa que cataliza la formación de puentes cruzados de peptidoglucano de la pared celular bacteriana. ⁴ (Ver figura 13)

Figura 13. Mecanismo de resistencia de *S. aureus* a la meticilina.



La exposición de *mecR1* a antibióticos β -lactámicos induce la síntesis de MecR1 el cual inactiva a MecI, permitiendo la síntesis de PBP2a. ¹¹

1.9.2 Casete cromosomal estafilocócico *mec* (SCC*mec*)

SCC*mec* es una isla genómica (Gisland), que se inserta al final del extremo 3' de un marco de lectura abierta (open Redding frame", ORF) denominado *orfX*, cerca del origen de replicación de *S. aureus*.

SCC*mec* recuerda una isla de patogenicidad; sin embargo, no contiene genes de virulencia. En este sentido se le conoce como una isla de resistencia a antibióticos, ya que aparte de conferir resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, contiene genes de resistencia adicionales como consecuencia de la integración de plásmidos y transposones en el casete cromosomal. ⁴

El SCC*mec* tiene tres componentes genéticos esenciales:

- **el complejo de genes *mec***, esta compuesto por el gen *mecA* y sus genes reguladores, *mecR1* y *mecl*, que pueden aparecer intactos o truncados en diferentes aislamientos y son completamente funcionales, además de



conferir una mayor represión en la expresión de PBP2a. El complejo mec contiene además el elemento de inserción IS431mec, que ha sido asociado con genes que codifican resistencia a diversos antibióticos y al mercurio. Con base en su estructura se han identificado cuatro clases de complejo mec: A, B, C, D.

Las clases A y B son más comunes en *S. aureus* y la C en *Staphylococcus haemolyticus*; sin embargo, se detectó un nuevo tipo de casete SCCmec en *S. aureus* que presentó la clase C.²² La clase D se ha detectado solo en *Staphylococcus hominis*.^{4,27}

- **el complejo de genes ccr**, que codifica para recombinasas sitio específicas responsables de la movilidad de SCCmec. Hasta la fecha se han reportado cinco tipos de ccr; cuatro de ellos son alotipos denominados del 1 al 4, que comparten aproximadamente el 80% de la identidad y presentan los genes ccrA y ccrB; el quinto tipo, recientemente descrito, denominado ccr5 o ccrC, presenta el gen ccrC y no se encuentra relacionado con los genes ccrA y ccrB.²⁷
- **región conocida como J (junkyard)**, conformada por elementos cuya constitución puede variar, sin ser todos ellos fundamentales. Comprende tres fragmentos denominados J1, J2 y J3; puede contener plásmidos o transposones portadores de genes de resistencia a antibióticos no β -lactámicos y a metales pesados.^{4,27}

Se ha reportado que el SCCmec no está restringido a la movilidad del gen mecA; él posee elementos adicionales, denominados no mec, que contribuyen a la supervivencia y al potencial patogénico de *S. aureus*. Entre los elementos no mec se encuentran secuencias que codifican para resistencia a metales pesados como el mercurio (SCCmer), o al ácido fusídico (SCC MSSA, por la sigla en inglés de Staphylococcal cassette chromosome methicillin-susceptible *S. aureus*) secuencias para biosíntesis capsular (SCCcap1), para la protección del ADN por sistemas de modificación-restricción (SCCCI) y para el catabolismo de la arginina (ACME, por la sigla en inglés de Arginine catabolic mobile element). La mayoría de estos elementos han sido reportados en estafilococos coagulasa negativa lo que sugiere, nuevamente, su transferencia desde estas especies a *S. aureus*



Tipos de casete cromosómico *mec* (SCC*mec*)

Diferentes combinaciones de las clases del complejo *mec* y de los alotipos del complejo *ccr* generan varios tipos de casete SCC*mec*. Además, variaciones en la región J, aun teniendo la misma combinación de los complejos *mec* y *ccr*, definen los subtipos o variantes.

En la actualidad se han descrito 6 tipos de SCC*mec* designados de I a VI; sus tamaños varían de 20 kb a 68 kb. (Ver figura 14)

Los tipos I, II y III se han asociado frecuentemente con infecciones nosocomiales; en contraste, los tipos IV y V se han encontrado en cepas de MRSA de la comunidad.^{4,27}

Recientemente se describió una variante del SCC*mec*, similar al tipo IV, pero portadora de un nuevo alotipo, el *ccrAB4*, que fue denominado tipo VI.

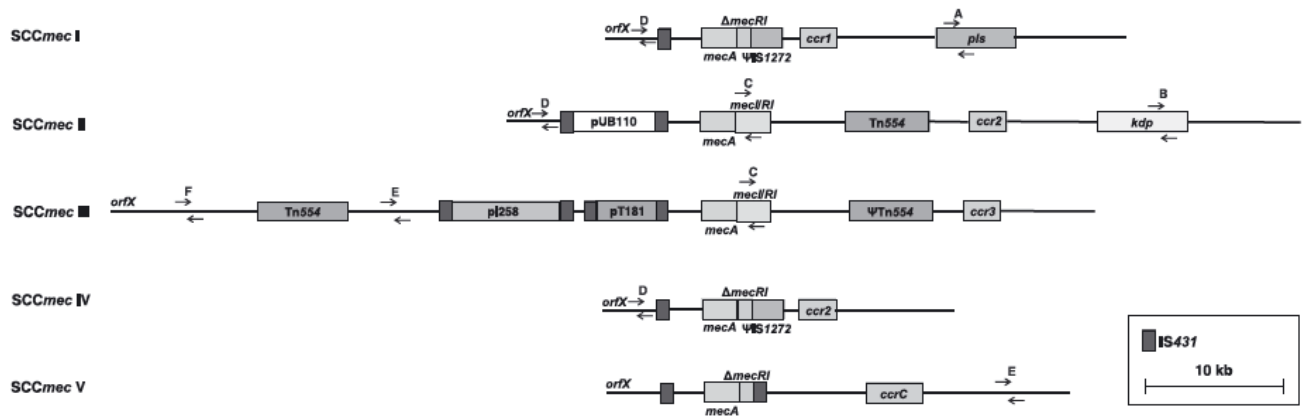
Los tipos II y III se caracterizan por contener muchos determinantes de resistencia a antibióticos no β -lactámicos y por su mayor tamaño, el II de 52 kb y el III de 66 kb.

Los tipos I, IV y V solo contienen genes para recombinasas, genes estructurales y reguladores de la resistencia a meticilina, carecen de elementos transponibles y de genes que codifiquen para resistencia a antibióticos no betalactámicos.

El tipo V se diferencia de los otros por contener un grupo de genes foráneos que codifican para un sistema de restricción-modificación que parece estar involucrado en la estabilización del elemento en el cromosoma. En la década de los años 70, el elemento tipo IV se asoció con *Staphylococcus epidermidis*; sin embargo, solo a partir de los años 90 se reportó su asociación frecuente con *S. aureus*, lo que sugirió un evento de transferencia horizontal de *mecA* entre dos especies de estafilococo diferentes, una patógena y otra comensal.^{4, 23, 27}. Estudios recientes indican que los SCC*mec* tipos I y IV se encuentran circulando en cepas MRSA en México.^{4,11}



Figura 14. Disposición de los tipos SCCmec I-V. Los principales elementos de los cinco tipos SCCmec²³



Origen del SCCmec

No se ha informado el elemento SCCmec en bacterias de otros géneros y su origen es aún desconocido, así mismo, se desconoce su mecanismo de transferencia pero está demostrado que ocurre en forma horizontal entre especies de *Staphylococcus*. Existe una teoría según la cual los genes *ccr* y *mec* fueron transferidos inicialmente a un estafilococo coagulasa negativa a partir de una fuente aún desconocida, que en esa especie sufrieron una delección de los genes reguladores *mec* antes de ser transferidos a *S. aureus* y dar origen al MRSA.

La presencia de la secuencia de inserción IS1272, característica de *Staphylococcus haemolyticus*, en los tipos SCCmec I y IV, sugiere que esta secuencia fue transferida de esta especie a *S. aureus*. Existe evidencia de que la historia evolutiva del SCCmec es independiente de la del gen *mecA*. Esto lo demuestra el hecho de que el SCCmec puede existir en forma independiente del gen *mecA*, y que este último puede existir en ausencia de los elementos que componen el SCCmec, como ocurre en especies de estafilococos coagulasa negativa.



1.9.3 Características importantes a destacar de la resistencia intrínseca a meticilina

- Responsable de la inducción de la síntesis de PBP2a, capaz de mantener la integridad de la pared celular durante el crecimiento y la división celular cuando las enzimas habituales son inhibidas por los antibióticos β -lactámicos. Experiencias experimentales muestran que cepas sensibles a meticilina carecen de ella.
- La expresión del gen puede ser constitutivo o inducible. *mecA* y su DNA asociado son elementos móviles.
- Esta altamente conservado entre las distintas especies del género *Staphylococcus*.¹⁵

Dada la complejidad de este mecanismo de resistencia, se ha considerado poco probable que haya surgido por la presión selectiva ejercida por la introducción de los medicamentos β -lactámicos. Aún no está claro el origen del gen *mecA* pero se ha propuesto que pudo haber evolucionado mucho tiempo atrás, en especies de estafilococo libres de β -lactamasas que se encontraban bajo presión selectiva por la penicilina, cuando se inició su utilización intensiva como medida profiláctica en veterinaria, luego de su introducción para uso en humanos. En este contexto, se presenta *Staphylococcus sciuri*, un colonizador frecuente de animales domésticos, como una de las especies implicadas; en él se identificó un gen *mecA* homólogo, con un alto porcentaje de similitud con el de *S. aureus*. La mayoría de los aislamientos de esta especie fueron susceptibles a antibióticos β -lactámicos, incluyendo la meticilina; sin embargo, se ha demostrado que las cepas susceptibles pueden ser convertidas a resistentes en el laboratorio, lo que revela su facilidad de adquirir resistencia.²⁷



1.9.4 Distribución clonal de las cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes

En la actualidad, la tipificación molecular juega un papel importante en el diagnóstico y manejo de infecciones estafilocócicas; aportando nuevos datos que han dado origen a la epidemiología molecular.^{4,5}

Existen diversos métodos de tipificación: serotipificación, electroforesis por multilocus enzimático, polimorfismos de fragmentos largos de restricción, ribotipificación, polimorfismos de la vecindad del gen *mecA*, electroforesis de campos pulsados y tipificación por secuencia de multilocus (MLTS), pero hasta el momento ninguno de estos métodos ha sido adoptado como estándar internacional.⁵

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* en años recientes, después de analizar una gran colección de cepas MRSA que circulan en diferentes áreas geográficas del mundo y de diferentes periodos se encontró que las cepas MRSA tienen una estructura clonal conservada y que se cuenta con un número reducido de clonas con la capacidad de diseminación global. Éstas se conocen como clonas MRSA pandémicas, dos esfuerzos independientes han sido descritos recientemente para establecer las relaciones epidemiológicas.

1. El primer proyecto realizado CEM/NET Centro de Epidemiología Molecular, el estudio incluyó aislamientos de Europa, América Latina, EUA, Taiwán, China y los primeros aislamientos de MRSA recuperados en Dinamarca e Inglaterra. Esta tipificación molecular se realizó para más de 3000 cepas de MRSA y dio como resultado la identificación de cinco clonas de pandémicas: Clona Ibérica, Clona Brasileña, Clona Húngara, Clona Nueva York/Japón y Clona Pediátrica.^{4,5} (Ver cuadro 5)
2. El segundo se basó en el análisis por MLST de clonas de MRSA y la creación de una base de datos central en el sitio www.mlst.net.⁵



Cuadro 5. Distribución de las principales clonas de *Staphylococcus aureus* Meticilino resistentes ⁵

Clona	País o Ciudad	Año de adscripción
Clona Ibérica	España, Portugal, Italia, Reino Unido, Alemania, Bélgica, Francia, República Checa y EUA.	1989
Clona Brasileña	Brasil, Portugal, Argentina, Uruguay, Chile y República Checa.	1992
Clona Pediátrica	Portugal, Polonia, EUA y Argentina	1992
Clona Húngara	Hungría, Taiwán y China.	1997
Clona Nueva York/Japón	Nueva York, Nueva Jersey, Pensilvania, Connecticut, EUA, Tokio, Japón y México.	1998

La determinación de las clonas en América Latina es reciente y se encontró que la clona Brasileña es la que predomina y persiste en Brasil (97 %), Argentina (86 %), Uruguay (100 %) y Chile (56 %). Sin embargo, en México se encontró una clona diferente denominada M.

La clona M, detectada en 1997, logró desplazar completamente en el 2002 a la cepa Nueva York/Japón, que se introdujo en el hospital en 2001.

La diseminación de las clonas MRSA en amplias zonas geográficas refleja su amplia habilidad para causar infecciones, persistir y diseminarse de una región a otra, mas aún a diferentes continentes.⁴

La conclusión global de estos estudios fue que los MRSA tienen una estructura clonal conservada en comparación con los *S. aureus* sensibles a meticilina, y que un número reducido de clonas cuenta con la capacidad de diseminación global.⁵



1.9.5 Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA y CA-MRSA

Desde el punto de vista microbiológico las cepas CA-MRSA son genéticamente diferentes del clásico *S. aureus* meticilina multirresistente que se conoce del ámbito hospitalario. Poseen atributos de virulencia específicos:

- existe una exotoxina, la leucocidina de Pantone-Valentine, habitualmente presente en menos de 5% de *S. aureus* y asociada con procesos inflamatorios severos en piel y partes blandas, así como en la neumonía necrotizante.
- poseen mayor rapidez de duplicación celular y una alta capacidad de diseminación.
- los genes de resistencia a meticilina se encuentran en una región de reciente identificación (SCCmec IV o V) distinta a la que poseen los MRSA hospitalarios clásicos, que no contienen los genes de resistencia a antibióticos adicionales que son típicos de las cepas HA-MRSA. Debido a esto sólo son susceptibles a los antibióticos β -lactámicos y ocasionalmente a la eritromicina.
- Sólo unas pocas clonas de CA-MRSA se han diseminado a través del mundo. Se han identificado dos clonas principales, la USA300 y la USA400. La clona USA300 se ha localizado en jugadores de fútbol y presos, mientras que la cepa USA400 se ha encontrado en varias poblaciones étnicas.
- La clona USA300 ha causado brotes epidémicos de infecciones de la piel y tejidos blandos en individuos sanos en 21 estados de EUA, Canadá y Europa. Se cuenta ya con la secuencia completa de su genoma. Además del gen PVL y del SCCmec IV, cuenta con un nuevo elemento genético móvil que codifica una vía para la desaminación de la arginina. Se le denomina elemento genético móvil para el catabolismo de la arginina ("arginine catabolism mobile element", ACME), y puede contribuir al crecimiento y supervivencia de la clona USA300. Este elemento se encuentra normalmente en *S. epidermis*, por lo que se sugiere una transferencia a partir de estos estafilococos a la clona USA300.
- El origen de las cepas CA-MRSA todavía está sujeto a debate. Una posibilidad es que sean descendientes silvestres de cepas hospitalarias, por



medio de una transformación vertical. Sin embargo, en un estudio donde se compararon cepas hospitalarias con las de la comunidad, no se encontró una relación entre las cepas HA-MRSA y las CA-MRSA. Otra posibilidad es que las cepas comunitarias surjan como consecuencia de una transferencia horizontal de los genes de la resistencia a meticilina.

Cuadro 6. Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA CA-MRSA ⁴

Cepas MRSA hospitalarias (HA-MRSA)	Cepas MRSA adquiridas en la comunidad (CA-MRSA)
Resistentes a múltiples antibióticos.	Resistentes por lo general sólo a antibióticos β -lactámicos y ocasionalmente a eritromicina.
Contienen SCCmec tipos I, II y III.	Contienen SCCmec tipos IV y V
Presentan una gran cantidad de toxinas.	Presentan sólo unas pocas toxinas en especial la Leucocidina Pantone-Valentine.
Producen una gran cantidad de procesos infecciosos.	Producen principalmente infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante y septicemia.
Cepas aisladas en pacientes con factores de riesgo nosocomial.	Cepas aisladas en la comunidad en pacientes que no tienen factores de riesgo de una infección nosocomial.
Cinco clonas pandémicas: Ibérica, Brasileña, Húngara, Nueva York / Japón y Pediátrica.	Dos clonas principales: la USA300 y la USA400.



1.9.6 Importancia clínica de MRSA

En años recientes las infecciones por *S. aureus* han reemergido debido a que la bacteria se ha vuelto resistente a los antibióticos con los que normalmente se les combate.

Desde hace muchos años se han reportado brotes epidémicos de *S. aureus* por todo el mundo. Estos se han detectado en una gran variedad de lugares, como hospitales, centros de atención y clínicas, y en años recientes, en la comunidad.

Actualmente, estos brotes se dividen en infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en comunidad.

1.9.6.1 Infecciones nosocomiales

Son un problema relevante de salud pública de trascendencia económica y social. Son de importancia clínica y epidemiológica debido a que presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad. Las infecciones nosocomiales se definen como aquellas infecciones que no estaban presentes al momento en que el paciente ingreso al hospital ⁴, el CDC (Centers for Disease Control and Prevention) define como infección nosocomial el simple hecho de que éste se aisle de un paciente tras más de 48 h de estancia hospitalaria siempre que no presente signos de infección por ese microorganismo al ingreso.³¹

En EUA se reporta una incidencia promedio de 3 al 5 %. En México se tiene reportado un promedio del 10 al 15 %. El impacto más importante de este problema es la mortalidad, la cual se estima en promedio de 5 %. Por ejemplo, se estima que en México, en 1996 de los 6 600 000 pacientes que recibieron atención médica hospitalaria, entre 600 000 y 750 000 presentaron infección nosocomial y de éstos murieron entre 30 000 y 45 000 por esta causa. El área hospitalaria con mayor frecuencia de infecciones nosocomiales es la Unidad de Terapia Intensiva.

Los estafilococos se han reconocido como un grave problema en los hospitales y se han establecido políticas de rutina sobre la vigilancia de enfermedades estafilocócicas adquiridas en los hospitales.^{2,4} *S. aureus* es la principal causa de infecciones adquiridas después de una operación y la segunda causa más frecuente de neumonía nosocomial y bacteriemia.¹ Las infecciones nosocomiales por *S. aureus* representan un gasto elevado.



En México se cuenta con la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), la cual reportó que en el periodo de 1998-2003, *S. aureus* ocupó el tercer lugar en morbilidad y cuarto lugar en mortalidad. En un estudio realizado en hospitales pediátricos, se encontró que *S. aureus* ocupa el cuarto lugar de microorganismos causantes de infecciones nosocomiales. Diversos estudios de vigilancia de las infecciones nosocomiales en México indican que del 8.3 al 36% de estas infecciones se debe a *S. aureus*.

Entre las infecciones nosocomiales en la actualidad se tiene un aumento en el número de brotes epidémicos debido a cepas de *S. aureus* que son resistentes a la meticilina. Las cepas MRSA son el patógeno resistente a antibióticos más comúnmente identificado en los hospitales de EUA., a estas cepas se les denomina MRSA adquiridas en hospitales (HA-MRSA).

Este aumento en infecciones de cepas MRSA se debe a varios factores, que incluyen el uso de antibióticos de amplio espectro, un mayor número de pacientes inmunocomprometidos en los hospitales y una mayor utilización de medios invasivos, como catéteres y sondas, que facilitan la entrada y colonización de cepas MRSA a la sangre y tejidos.

1.9.5.2 Infecciones adquiridas en la comunidad.

Hasta hace pocos años las infecciones por *S. aureus* meticilina resistentes generalmente se adquirían dentro de los hospitales. Sin embargo, a finales de los años 90, emergieron cepas MRSA en adultos y niños sanos en las comunidades, las cuales dieron origen a infecciones^{4,19}

La adquisición de estas cepas se realiza fuera de los tradicionales factores de riesgo de las cepas MRSA hospitalarias, son susceptibles a pocos antibióticos y presentan la inclusión de factores de virulencia específicos. Las cepas de *S. aureus* que causan estas infecciones se han denominado cepas MRSA adquiridas en la comunidad ("community-acquired MRSA", CA-MRSA).^{4,19}

Para clasificar una cepa de *S. aureus* como CA-MRSA se debe cumplir con la condición de que sea una cepa aislada en la comunidad en pacientes que no tienen los factores de riesgo de una infección nosocomial MRSA.^{4,19,25}

Las cepas CA-MRSA representan un problema muy serio, y los primeros reportes que llamaron la atención sobre ellas fueron las muertes por neumonía necrotizante de cuatro niños sanos en EUA entre 1997 y 1999.



La prevalencia de las cepas CA-MRSA en personas sin factores de riesgo nosocomial que viven en la comunidad está en aumento.

Se han producido varios brotes epidémicos de CA-MRSA en los últimos 6 y 8 años. Algunos de estos brotes se han registrado en: cárceles, equipos de fútbol americano; militares, homosexuales, y nativos americanos de Alaska y de las Islas del Pacífico. En todos estos casos la población afectada no tenía los factores de riesgo establecidos para adquirir infecciones por HA-MRSA.

Los síntomas clínicos causados por CA-MRSA son principalmente infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante y septicemia.^{4, 25} Sin embargo, se han reportado enfermedades que no son típicas de los estafilococos.⁴

En EUA los Centros de Prevención y Control de Enfermedades (CDC), han realizado recientemente un estudio nacional para determinar la prevalencia y colonización de *S. aureus* y cepas MRSA en la población.

En este estudio se encontró que el 32.4% de la población es portadora de *S. aureus* y el 0.8% está colonizado con cepas MRSA. Se estima que 89.4 millones de estadounidenses presentan *S. aureus* y 2.3 millones son portadores de cepas MRSA. Además que la prevalencia de colonización es mayor entre la población de 6 a 11 años.⁴

Otro estudio realizado revela que en los años 2003-2004, aproximadamente el 29% (78,9 millones de personas) y 1,5% (4,1 millones de personas) de la población de los E.U. fue colonizada en la nariz con *S. aureus* y MRSA, respectivamente.³⁷

En 2005, hubo un estimado de 478,000 hospitalizaciones en E.U. con diagnóstico de infección por *S. aureus*. De ellos aproximadamente 278 mil hospitalizaciones fueron relacionadas con MRSA. Esto incluye las personas admitidas en el hospital para el tratamiento de una infección que fue adquirido o producido fuera del hospital.³⁸

Hasta hace poco se encontraba que las cepas MRSA estaban poco diseminadas en la comunidad, por lo que se pensaba que posiblemente estas cepas presentaban una desventaja biológica en relación con las cepas susceptibles a la meticilina. Sin embargo, este panorama parece haber cambiado debido a una nueva aparición de las cepas CA-MRSA (Ver figura 15). Estudios recientes han demostrado un aumento sustancial en la tasa de



colonización nasal de cepas MRSA en la comunidad, e indican el cambio en el perfil epidemiológico de las cepas MRSA en la comunidad sugiriendo que las cepas CA-MRSA han adquirido dos propiedades importantes. Primero, tienen la habilidad para colonizar eficientemente. Segundo, poseen una variedad de factores de virulencia que son necesarios para causar una serie de enfermedades, desde una simple furunculosis hasta abscesos profundos, osteomielitis, neumonía necrotizante y sepsis, con peligro de muerte. Esta combinación de factores demuestra la profunda adaptabilidad de *S. aureus*.⁴

Se puede representar gráficamente el comportamiento de los diferentes fenotipos y clonas asociadas a las cepas CA-MRSA y HA-MRSA durante los años comprendidos entre 2001 y 2006, es importante destacar la aparición en el ámbito hospitalario de éstas cepas comparadas con la disminución de cepas HA-MRSA en infecciones hospitalarias, observándose que las cepas que presentan el cassette estafilocócico tipo I y II son sensibles a SXT, este estudio destaca la importancia de establecer el tipo de clona del que se trata para la optimización del tratamiento en los servicios de salud privada y pública. (Ver figura 15 y 16).

Figura 15. Representación gráfica de la evolución de diferentes fenotipos y clonas asociados a infecciones comunitarias

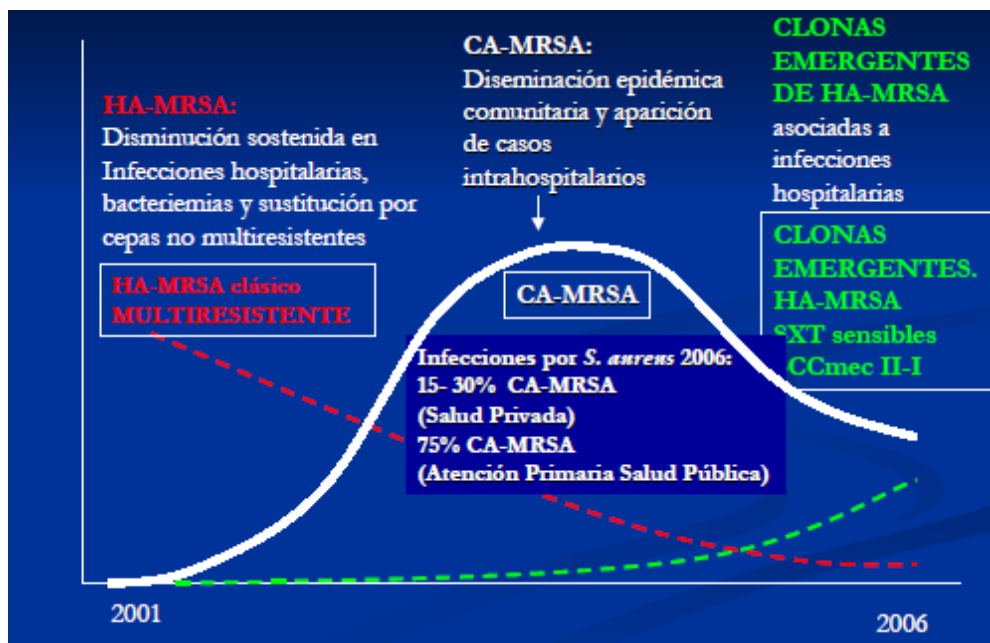
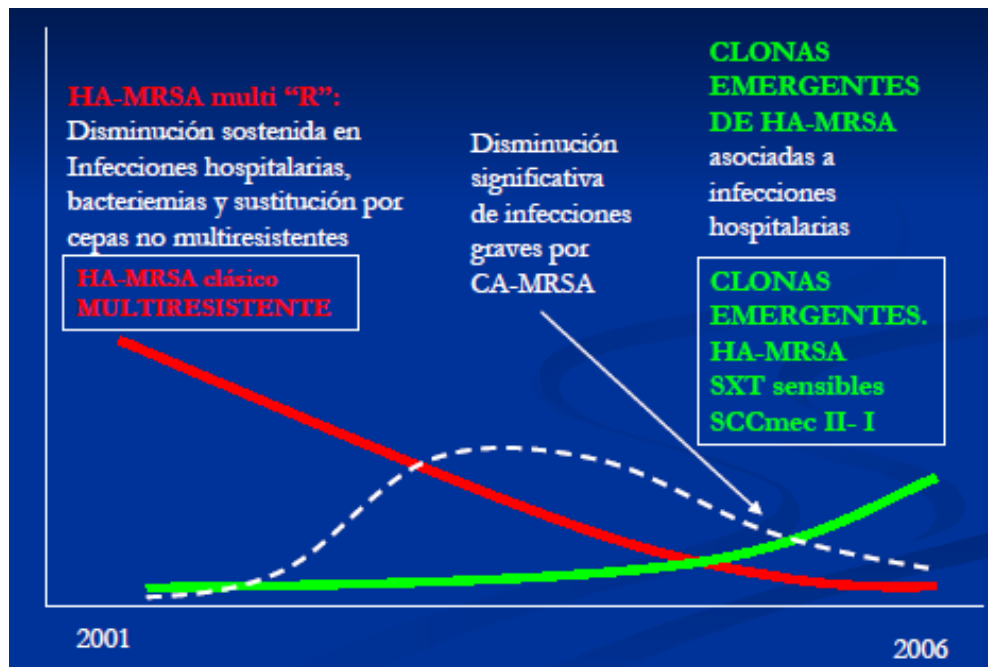


Figura 16. Representación gráfica de la evolución de diferentes fenotipos y clonas asociados a infecciones hospitalarias



En el presente trabajo se han analizado las generalidades y mecanismos de resistencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* además de la aparición de nuevas cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. Estas últimas apareciendo en el ámbito hospitalario y en la comunidad provocando grandes pérdidas humanas como económicas.

La importancia del tema radica en conocer el impacto que tienen las cepas MRSA desde el punto de vista clínico, lo cual en las últimas décadas se ha convertido en una problemática a nivel mundial. Entre los puntos importantes a destacar se encuentra que:

- La mortalidad atribuible a infecciones por MRSA es del 21 % vs 8 % de las originadas por *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.⁴⁷
- Las infecciones que se producen durante las cirugías mayores (ver figura 17) no sólo aumentan la inestabilidad del paciente sino que también provocan altísimos costes económicos. Un estudio realizado a 659 pacientes en diversos hospitales del estado de Carolina (EU) evalúa estos costes y plantea indicadores para justificar la inversión en prevención de



este tipo de infecciones. Según este estudio las infecciones de origen quirúrgico, producidas principalmente por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA), multiplican por 7 el riesgo de muerte del paciente, aumentan 35 veces el riesgo de reingreso hospitalario, provocan más de 3 semanas de hospitalización adicional y conllevan más de 60.000 dólares de gastos adicionales en comparación con los casos no infectados. El impacto atribuible de *Staphylococcus aureus* y la resistencia a la metilina en los resultados de los pacientes quirúrgicos es sustancial. El estudio concluye que la prevención de un sólo caso de infección quirúrgica por MRSA puede representar un ahorro para los hospitales de hasta 60.000 dólares y estima en 10 billones de dólares anuales los costes que este tipo de infecciones provocan en el sistema sanitario de E.U.⁴⁸

En un curso que se impartió en marzo 2008, “Antimicrobianos: Implicaciones y pronósticos” por el Dr. Javier Murillas se dieron a conocer los siguientes datos extraídos de estudios publicados en la revista Clin Infec Dis (2000, 2004, 2008), J. Clin Microbiol (2007) y Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008)

- En infecciones nosocomiales y adquiridas en comunidad la mortalidad y probabilidad de duración en hospitalización es 2 veces más alta con cepas MRSA en comparación con cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles a metilina.
- Respecto a las cepas CA-MRSA, se han descrito brotes en cárceles, equipos de football y escuelas.
- 14 % de CA-MRSA frente a 3 % de *Staphylococcus aureus* sensibles a metilina (MSSA) tuvieron convivientes que también padecieron la infección, tal hecho demuestra la capacidad de diseminación del microorganismo.
- Se ha observado que las cepas CA-MRSA están desplazando a las cepas HA-MRSA en hospitales.
- Respecto a “Mortalidad, bacteriemia y shock” un estudio realizado en 2 años comparo 102 infecciones por CA-MRSA y 102 causadas por CA-MSSA observando un tratamiento eficaz para CA-MSSA del 84 % en comparación con un 61 % de CA-MRSA. En ese mismo estudio el grado de



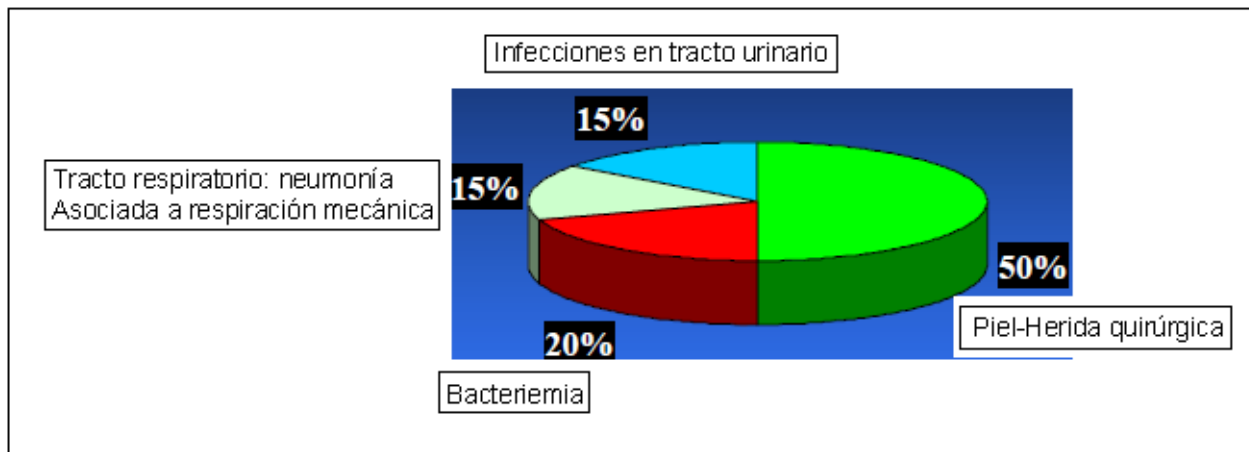
hospitalización por CA-MRSA fue de un 45 % y para CA-MSSA de 18 %, enfatizando en 1 solo éxito por neumonía necrotizante.

- Debido a la capacidad de diseminación de las cepas MRSA es importante considerar los focos de infección mas frecuentes, entre ellos la piel por herida quirúrgica, bacteriemia, infecciones del tracto urinario y tracto respiratorio, éste último asociado a respiración mecánica. (Ver figura 18)
- CA-MRSA es un patógeno emergente en infecciones con endocarditis.
- Un nuevo grupo de riesgo: pacientes diabéticos



Figura 17. Infección MRSA en mediastinitis.

Figura 18. Focos de Infección más frecuentes por MRSA. ⁵⁰



Independientemente del origen de estas cepas, el surgimiento de las cepas MRSA en la comunidad es una enorme amenaza con implicaciones clínicas importantes. Los tratamientos con antibióticos pueden fallar dando como resultado complicaciones que pueden terminar con la muerte del paciente.

Las infecciones causadas por cepas resistentes a la metilina pueden ser más difíciles de manejar y con un costo mayor. El disminuir la utilización de los antibióticos que favorecen la selección de cepas resistentes es un paso esencial para controlar el surgimiento de estas cepas en los hospitales y en la comunidad.

Se deben establecer las estrategias más efectivas para prevenir que emerjan y se diseminen las cepas CA-MRSA. El control de infecciones en los hospitales debe jugar un papel importante. Las estrategias en la comunidad pueden enfatizar la detección oportuna, el tratamiento adecuado de las infecciones y la optimización de las medidas básicas de higiene. Una estrategia adicional que no se ha establecido es eliminar la colonización de *S. aureus* en portadores sanos, ya que podrían aplicarse estudios epidemiológicos a poblaciones y condiciones específicas para prevenir focos de infección.

En México existe un número limitado de estudios sobre la prevalencia e incidencia de cepas MRSA, al ser un microorganismo patógeno emergente es necesario actualizarse respecto a conocimientos del mismo, así como tomar medidas preventivas en cada uno de los hospitales de salud que permitan controlar la diseminación y multiresistencia de las cepas.



2. JUSTIFICACION

Staphylococcus aureus es la principal especie patógena de su género común en diversas infecciones tanto a nivel comunitario y hospitalario.

El interés del estudio por este agente patógeno es: 1) su elevada frecuencia; 2) presenta un aumento en los casos de cepas resistentes a metilina y 3) ser una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en el país.

Las vías más comunes de adquirir infecciones por MRSA son la autoinfección de portadores nasales y la transmisión a través de las manos del personal luego de ser colonizadas transitoriamente por estafilococos de su propio reservorio (nasofaringe y piel) o de pacientes infectados o colonizados, aumentando el grado de diseminación y focos de infección.

En el INCICH se efectúa como parte de la erradicación de focos sépticos y de control de resistencias antimicrobianas, exudados nasales en busca de *Staphylococcus aureus* a todos los pacientes con posibilidad de ser tributarios de tratamiento quirúrgico, pacientes con hemodiálisis y en general a los que ingresan por el servicio de urgencias, así como al grupo de trabajadores y personal de nuevo ingreso de las divisiones de cirugía.

Por lo anterior, resulta necesario realizar estudios sobre los patrones de colonización nasal en el personal de la salud y en pacientes, con el fin de desarrollar estrategias de prevención específicas y proporcionar tratamiento de erradicación a los que resulten portadores.



3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Conocer la frecuencia de colonización de *Staphylococcus aureus* y cepas MRSA en pacientes y personal de salud del INCICH.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la frecuencia de *Staphylococcus aureus* en exudados nasales de personal de salud y pacientes del INCICH.
- Selección de cepas *Staphylococcus aureus* metilino resistente.
- Determinar la resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Staphylococcus aureus* a metilina (OX), trimetoprima/Sulfametoxazol (SXT), Claritromicina (€), tetraciclina (TETRA) y rifampicina (RA).
- Identificar la presencia del gen MecA en aislamientos de MRSA detectado por su producto de expresión (proteína PBP2').



4. METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Materiales

Medios de cultivo comercial (bioMérieux)

- Agar Columbia 5 % sangre de cordero (COS 5 %)
- Agar Mueller-Hinton (MH)

Medios preparados en el laboratorio (Becton Dickinson)

- Medio líquido Infusión de cerebro y corazón (BHI)
- Medio líquido Trypticase Soya (TS).
- Placas de agar Mueller Hinton suplementado con 4 % de NaCl y 6 µg/mL de oxacilina

Reactivos

- Colorantes para tinción de Gram (BBL Becton Dickinson)
- Phadebact® Staph Aureus Test (Bactus)
- Slidex® MRSA Detection (bioMérieux)
- Peróxido de Hidrógeno

Sensidiscos (Becton Dickinson BBL)

- Cefoxitin 30 µg (marcador de resistencia a oxacilina, establecido por CLSI, 2010)⁴⁴
- Claritromicina 15 µg
- Oxacilina 1 µg
- Rifampicina 5 µg
- Tetraciclina 30 µg
- Trimetoprima/Sulfametoxazol 1.25/23.75 µg (SXT)

Material biológico

- 76 cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes.
- Cepas ATCC (American Type Culture Collection)
ATCC 43300 *Staphylococcus aureus* (OXA-resistente, detección del gen).
ATCC 29213 *Staphylococcus aureus* (OXA-sensible, detección del gen).
ATCC 25923 *Staphylococcus aureus* (OXA-sensible, método Kirby-Bauer).



4.2 Metodología

En el estudio se incluyen todos los exudados nasales efectuados en el periodo comprendido de septiembre 2008 a septiembre 2010 para determinar frecuencia de colonización por *S. aureus*

Las 76 cepas de *Staphylococcus aureus* que mostraron resistencia a oxacilina se almacenaron a -70 °C hasta su estudio de susceptibilidad.

4.2.1 Recuperación de cepas de *Staphylococcus aureus*

Se recuperaron las cepas en medio líquido de Infusión de cerebro y corazón (BHI), así como en placas de agar sangre. Se incubaron a 35 ° C ± 1 ° C durante 24-48 horas. (Ver parte experimental 5.2)

4.2.2 Pruebas para comprobar la pureza e identidad de la cepa: microscópica (Tinción de Gram), macroscópica (características coloniales), bioquímicas (catalasa, oxidasa) y aglutinación (ver parte experimental 5.3)

4.2.2.1 Identificación microscópica, se realizó tinción de Gram a todos los aislamientos recuperados en agar sangre, en los cuales se observaron cocos Gram positivos agrupados en racimos.

4.2.2.2 Identificación macroscópica, las colonias de *S. aureus* en agar sangre presentaron las siguientes características morfológicas: colonias circulares, de 3 a 5 mm de diámetro, borde entero, superficie lisa, consistencia butirosa, elevación convexa, con pigmentación amarilla y β-hemólisis.

4.2.2.3 Identificación bioquímica, las cepas de *S. aureus* se sometieron a las siguientes pruebas: catalasa, oxidasa y aglutinación serológica para confirmar coagulasa positiva.

4.2.2.4 Aglutinación: Phadebact® Staph Aureus Test es una prueba rápida que contiene proteínas plasmáticas humanas y porcinas en concentraciones específicas, acopladas a partículas de látex color rojo. La coagulasa y/o la proteína A, presentes en *S. aureus* reaccionan con las partículas sensibilizadas produciendo una aglutinación visible (resultado positivo).



4.3 Pruebas de resistencia antimicrobiana

4.3.1 Prueba de resistencia a antimicrobianos (ver parte experimental 5.4)

Se determino por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) recomendado por “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) que se describe a continuación:

- Preparación del inóculo

A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de *S. aureus* en base agar suplementado con 5 % de sangre de carnero, se realizó una suspensión de cada uno de los aislamientos en 3 mL de medio líquido TSA a una turbidez equivalente a la constante No. 0.5 de McFarland (1.5×10^8 UFC / mL)

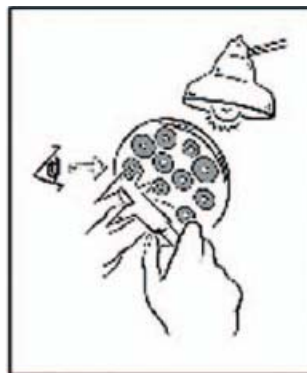
- Inoculación de las placas

La suspensión bacteriana estandarizada de cada una de las cepas, se uso para humedecer un hisopo estéril de algodón y se sembró en tres direcciones respetando un ángulo de 60 ° sobre la superficie de la placa de agar Mueller-Hinton (MH).

Después de inocular la placa, se colocó un disco de cada antimicrobiano en estudio a una distancia de 2 cm uno del otro. Se incubó la placa en posición invertida por 24 horas a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron las lecturas correspondientes a los halos de inhibición haciendo uso de luz transmitida (Ver Figura 19) ya que permite una mejor detección de MRSA heterorresistente y fueron comparados con los puntos de corte establecidos CLSI (2010) para evaluar la resistencia. (Cuadro I)

En todas las determinaciones se emplearon controles positivo y negativo para la aprobación de la prueba. Las cepas control que se utilizaron para el método de Kirby-Bauer fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (susceptible) y *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (resistente).

Figura 19. Forma de realizar las lecturas de halo de inhibición usando luz transmitida.



Cuadro I. Corte establecido por CLSI (2010) para la resistencia a antimicrobianos por el método de difusión en disco.				
Grupo	Disco (contenido)	Diámetro del halo en mm		
		S	I	R*
A	Trimetoprima/Sulfametoxazol 1.25/23.75 µg (SXT)	≥ 16	11-15	≤10
	Claritromicina 15 µg	≥ 18	14-17	≤13
B	Tetraciclina 30 µg	≥ 19	15-18	≤14
	Rifampicina 5 µg	≥ 20	17-19	≤ 16

*Sensible (S), Intermedio (I), Resistente (R)

Cuadro II Corte establecido por CLSI (2010) para determinación de resistencia a oxacilina				
Grupo	Disco (contenido)	Diámetro del halo en mm		
		A	Oxacilina (1 µg)	≥ 13
Control	ATCC 43300 (Oxacilina 1 µg)	0-20		
Control	ATCC 25923 (Oxacilina 1 µg)	30-35		
Marcador de resistencia a oxacilina Cefoxitin (30 µg)				
Control	ATCC 43300 (mecA positivo)	23-29		
Control	ATCC 25923 (mec A negativo)	≤ 21		

4.3.2 Detección de resistencia a oxacilina como marcador a β-lactámicos (ver parte experimental 5.5)

- Preparación de las placas

Se prepararon placas de agar Mueller Hinton suplementado con 4 % de cloruro de sodio (NaCl) y 6 µg / mL del antimicrobiano oxacilina. Se sometieron a prueba de esterilidad y funcionalidad.

- Inoculación de las placas

De la suspensión bacteriana estandarizada de cada uno de las cepas, se inoculo 1 µL y se sembró por estría cruzada sobre la superficie de la placa de agar Mueller-Hinton suplementado con 4 % de NaCl y 6 µg/mL de oxacilina.



Después de inocular la placa, se incubó la placa en posición invertida por 24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron las lecturas establecidas por CLSI (2010), la interpretación es cualitativa, en caso de observar crecimiento la prueba indica resistencia a oxacilina ($> 1\text{ UFC}$)

En todas las determinaciones se emplearon controles positivo y negativo para la comprobación de la prueba. Las cepas control que se utilizaron fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (susceptible) y *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (resistente).

4.4 Determinación de cepas *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina mediante la detección de PBP'2 (penicillin-binding protein 2') (Ver parte experimental 5.6)

Slidex ® MRSA Detection es una prueba rápida de aglutinación de partículas de látex que permite la detección de la resistencia meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* mediante detección de PBP2' (penicillin-binding protein 2')

Contenido del kit

R1: látex sensibilizado con un anticuerpo monoclonal anti-PBP'2 (ratón) y azida sódica 0.1 g / L.

R2: látex control negativo, azida sódica 0.1 g / L.

R3: reactivo de extracción 1, solución de NaOH 0,1 mol / L.

R4: reactivo de extracción 2, solución de KH_2PO_4 0,5 mol / L.

a) Selección de colonias

Se seleccionaron colonias previamente identificadas como *Staphylococcus aureus* en agar sangre tras 24 horas de incubación.

b) Método de extracción de PBP'2

En un tubo de microcentrifuga se agregaron 4 gotas del reactivo de extracción 1 (R3) y 3 asadas de las colonias aisladas, formando una suspensión.

Se colocó el tubo de microcentrifuga en baño maría a una temperatura entre 95 y $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos. Una vez concluido el tiempo se retiró del baño y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Se añadió una gota del reactivo de extracción 2 (R4) y se procedió a homogenizar empleando para ello un vórtex.

Posteriormente la muestra se centrifugó a 1500 g durante 5 minutos.



c) Método de aglutinación en látex

Antes del uso se dejaron atemperar los reactivos y se resuspendieron los reactivos con látex. Se identifico previamente una tarjeta con los rótulos prueba (para el látex sensibilizado R1) y control negativo (R2).

Se depositó una gota de látex sensibilizado (R1) en la tarjeta y 50 μ L de muestra, se mezclo bien con la ayuda de un aplicador. De la misma manera se procedió para el control negativo. Se homogenizó la tarjeta con un ligero movimiento de rotación durante 3 minutos. Finalmente se interpreto el resultado según lo establecido en el inserto del kit.

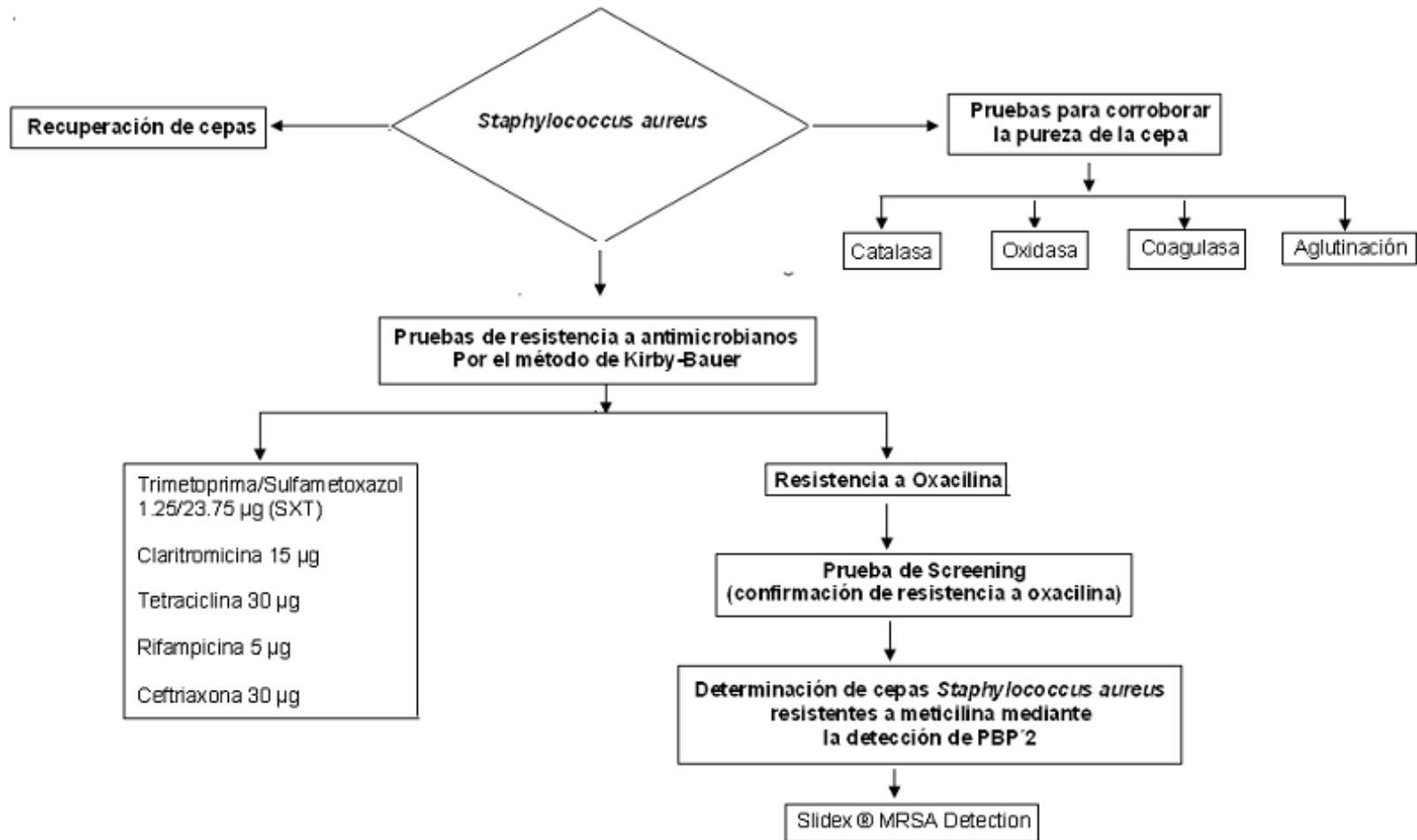
En todas las determinaciones se emplearon controles positivo y negativo para la comprobación de la prueba. Las cepas control que se utilizaron fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (susceptible) y *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (resistente).



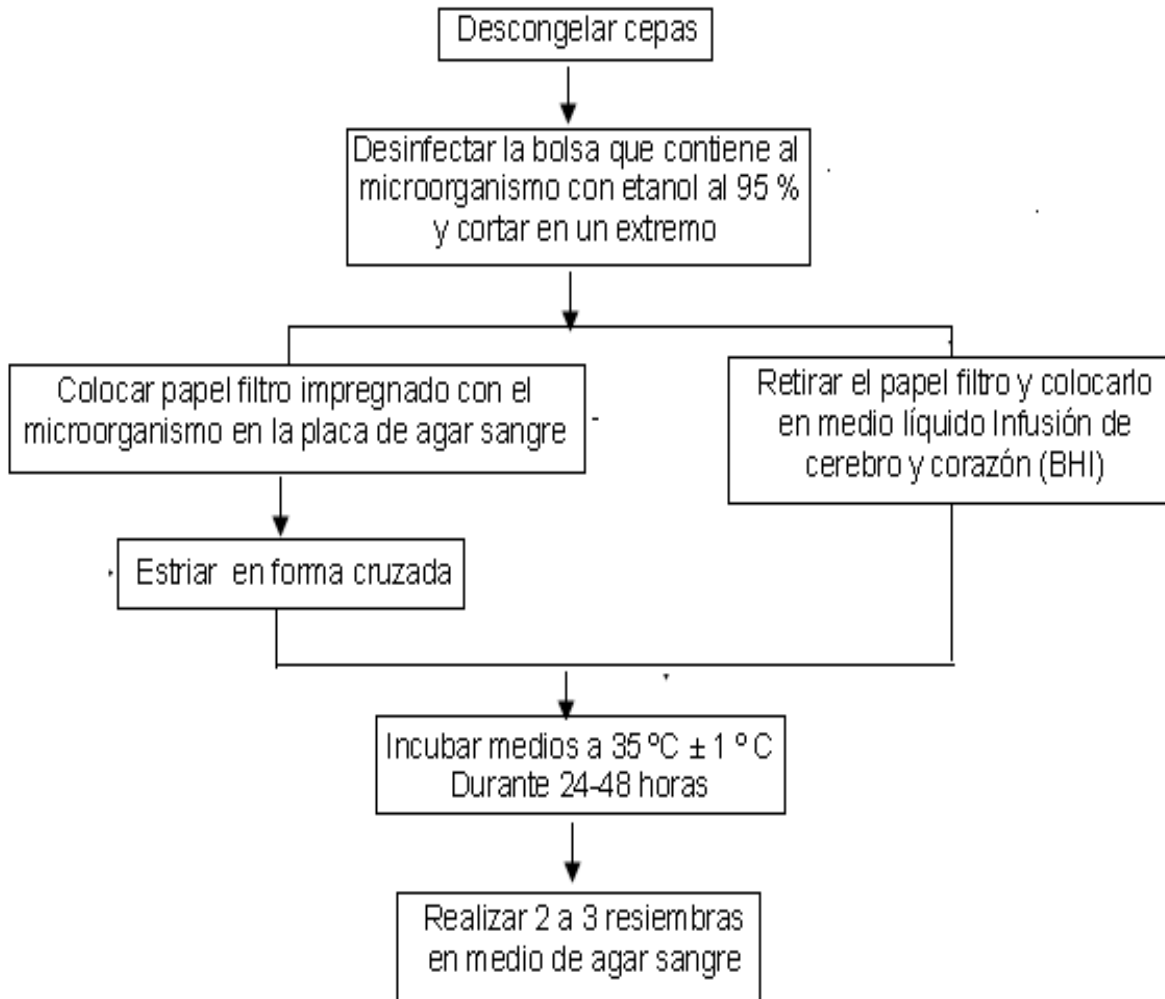


5. DIAGRAMA EXPERIMENTAL

5.1 Plan de trabajo general

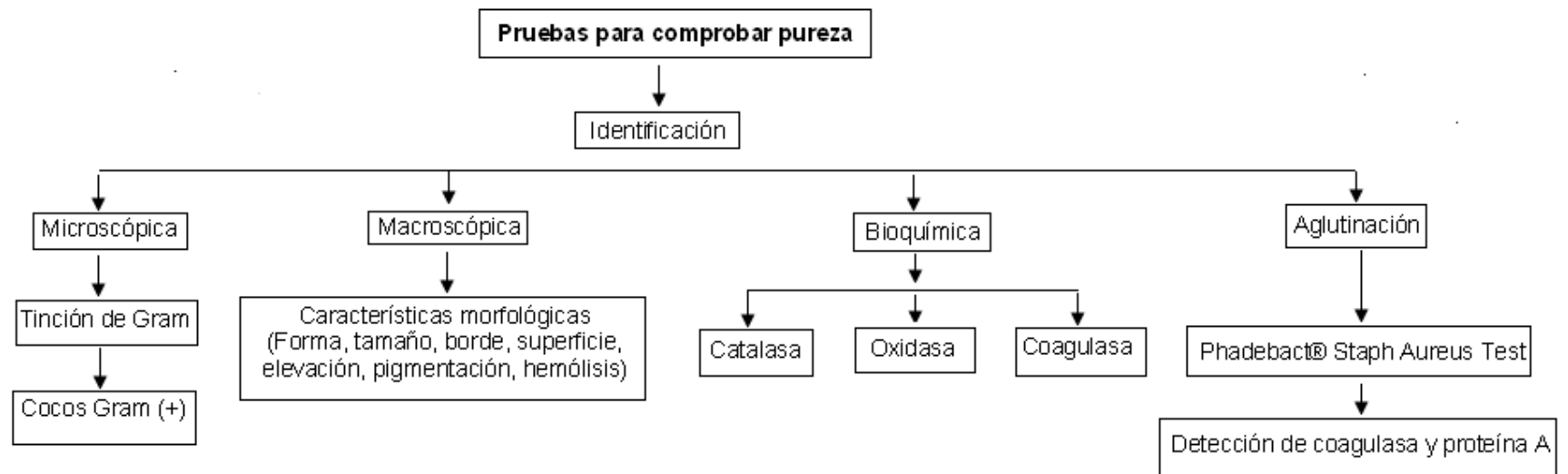


5.2. Recuperación de cepas *Staphylococcus aureus* MRSA

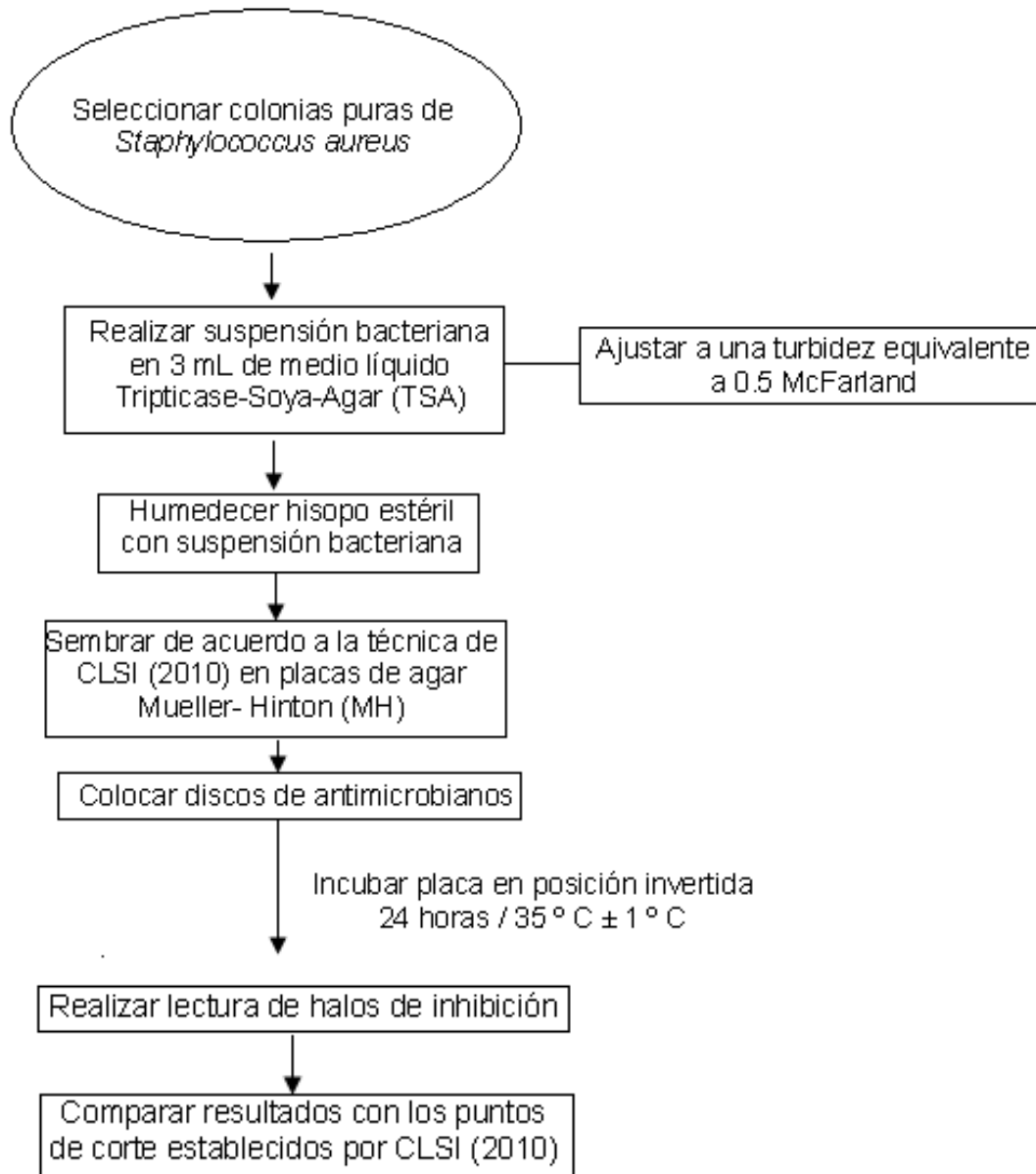




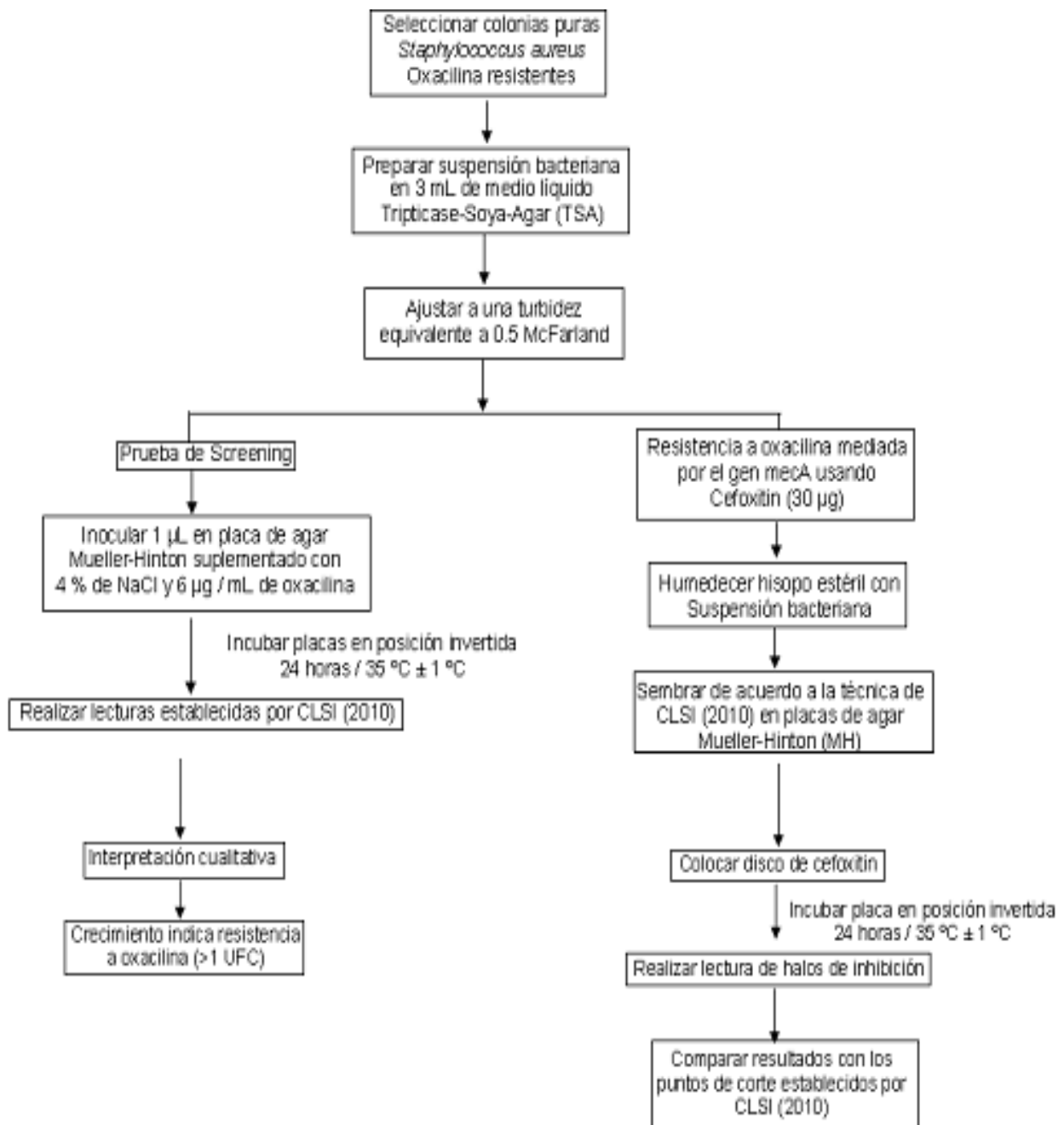
5.3 Pruebas para comprobar pureza de la cepa



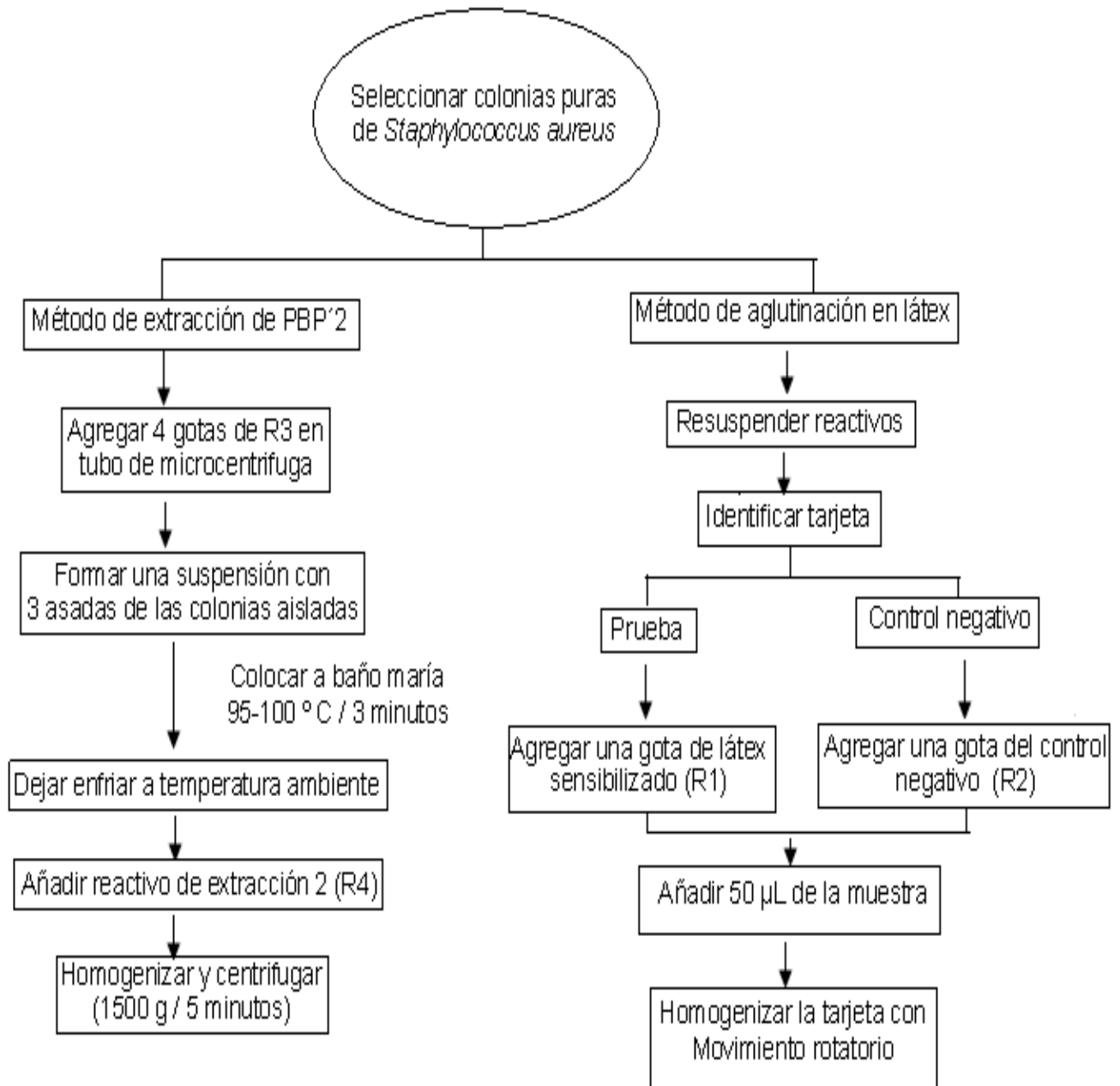
5.4 Prueba para perfil de susceptibilidad a antimicrobianos: claritromicina, oxacilina, rifampicina, tetraciclina y trimetoprima con sulfametoxazol.



5.5 Detección de resistencia a oxacilina como marcador a β -lactámicos



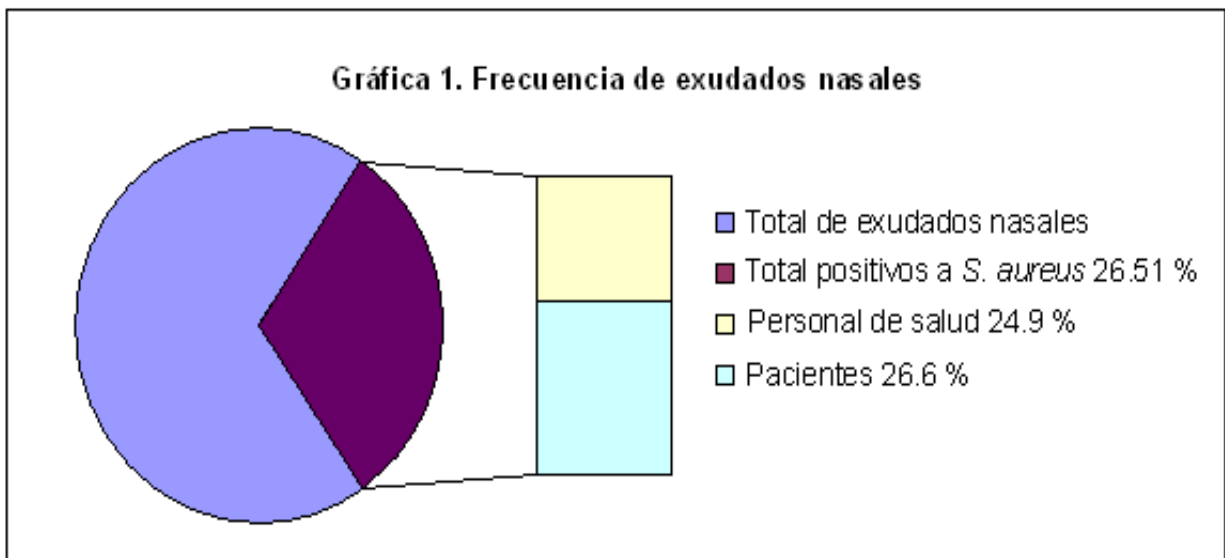
5.6 Determinación de cepas *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina mediante la detección de PBP'2 (penicillin-binding proteína 2')



6. RESULTADOS

Se analizaron un total de 2922 exudados nasales en el periodo de estudio, de estos 2769 corresponden a pacientes y 153 a personal de salud que presta sus servicios en el INCICH (Ver tabla 1 y gráfica 1)

Tabla 1. Distribución de exudados nasales positivos <i>Staphylococcus aureus</i> pertenecientes a pacientes y personal de salud.			
Total de exudados nasales	Total de exudados nasales positivos a <i>Staphylococcus aureus</i>	Exudados nasales positivos de pacientes	Exudados nasales positivos de personal de salud
Valores absolutos (%)			
11022	2922 (26.51)	2769 (26.6)	153 (24.9)



Del total de 2922 de *S. aureus* aislados, 76 mostraron resistencia a oxacilina, de estas cepas 73 correspondieron a pacientes y 3 a personal de salud (Ver tabla 2 y 3)

Tabla 2. Distribución de exudados nasales positivos a *Staphylococcus aureus* CA-MRSA de pacientes.

Exudados nasales <i>Staphylococcus aureus</i> de Pacientes	MRSA	%
2769	73	2.63

Tabla 3. Distribución de exudados nasales positivos a *Staphylococcus aureus* CA-MRSA pertenecientes a personal de salud.

Exudados nasales <i>Staphylococcus aureus</i> de Personal de salud	MRSA	%
153	3	1.96

6.1 Pruebas para comprobar la pureza e identidad de las cepas

Los 76 aislamientos recuperados de *Staphylococcus aureus* de pacientes extrahospitalarios y personal de salud cumplieron con las pruebas realizadas para comprobar la pureza de la cepa. (Ver tabla 4)

Tabla 4. Pruebas realizadas para comprobar pureza e identidad de las cepas	
Determinaciones	Resultados
Microscópica	Cocos Gram (+)
Macroscópica	En agar sangre, colonias circulares, tamaño mediano a grande, borde entero, superficie lisa, consistencia butirosa, elevación convexa, con pigmentación amarillo y β -hemólisis.
Catalasa	+
Oxidasa	-
Coagulasa	+
Aglutinación (Phadebact® Staph Aureus Test)	+

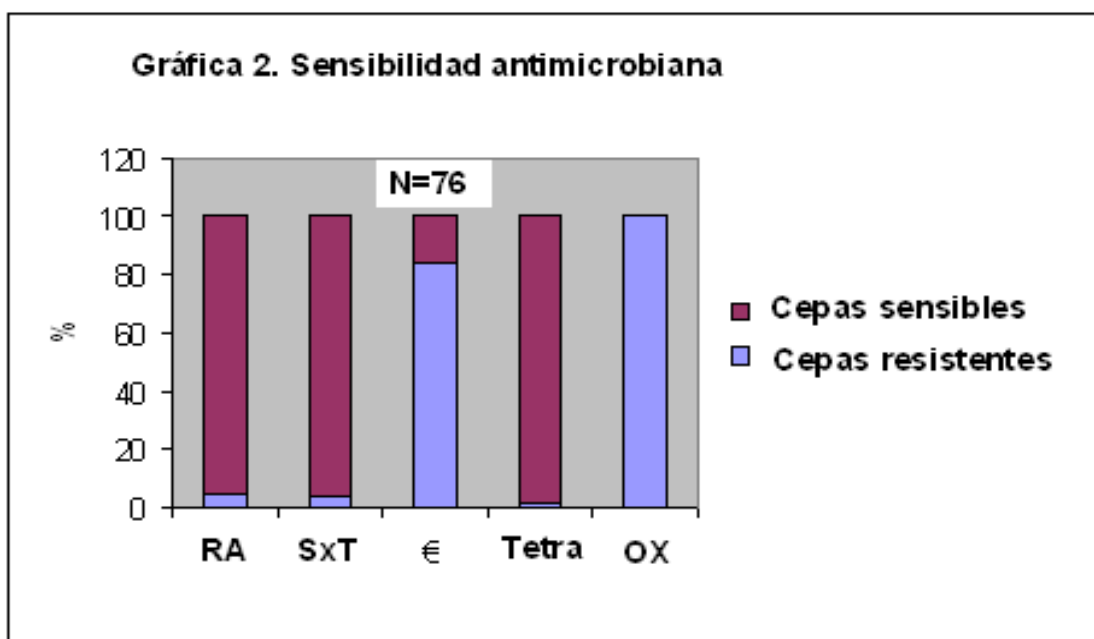


6.2 Pruebas de resistencia a antimicrobianos

En base al método de difusión en disco (Kirby- Bauer) se determinó la resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol, claritromicina, tetraciclina, rifampicina y oxacilina; a un total de 76 aislamientos de *Staphylococcus aureus*. (Ver tabla 5 y gráfico 2)

TABLA 5. Resistencia a antimicrobianos de las cepas CA-MRSA. Valores representados en números absolutos y porcentajes de cepas resistentes.

Antimicrobiano	Cepas MRSA-CA n=76 (%)	
	Resistente	Sensible
Rifampicina (RA)	3 (4)	73 (96)
Cotrimoxazol (SxT)	2 (3)	74 (97)
Claritromicina (€)	64 (84)	12 (16)
Tetraciclina (Tetra)	1 (1)	75(99)
Oxacilina (Ox)	76 (100)	0



RA = Rifampicina; SxT = Trimetoprima/Sulfametoxazol; € = Claritromicina; Tetra = Tetraciclina; OX = Oxacilina.

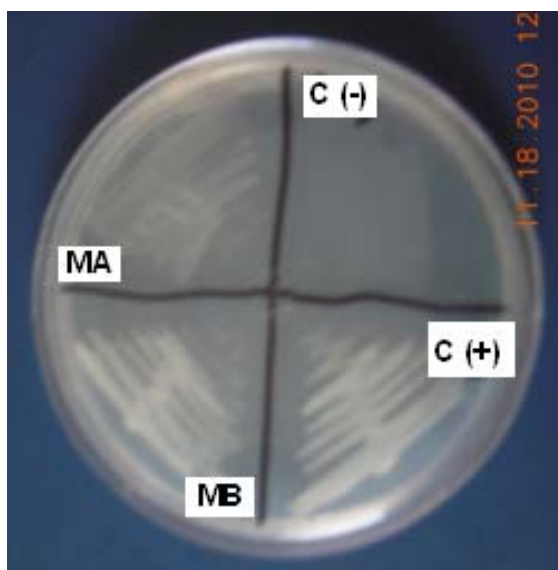


6.3 Detección de resistencia a oxacilina como marcador a β -láctamicos

Se empleó cefoxitin como marcador de resistencia a oxacilina y se realizó ensayo de Screening (Ver figura 20) para confirmación de resistencia a las 76 cepas de *S. aureus*, obteniendo en todas resultado positivo.

Figura 20. Prueba de screening

C(-)= Control negativo
C(+)= Control positivo
MA y MB = cepas *S. aureus*



6.4 Prueba de aglutinación para detección de cepas MRSA por producto de PBP'2

La prueba de aglutinación Slidex® MRSA Detection es una prueba rápida de aglutinación de partículas de látex que permite la detección de la resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* mediante detección de PBP2' (penicillin-binding proteín 2'), este test se le aplicó a los 76 aislamientos de *S. aureus* resistentes a oxacilina. Asimismo permitió la comparación con la técnica establecida por CLSI para determinación de resistencia a oxacilina mediada por el gen *mecA* empleando para ello como marcador cefoxitin. (Ver figura 21)

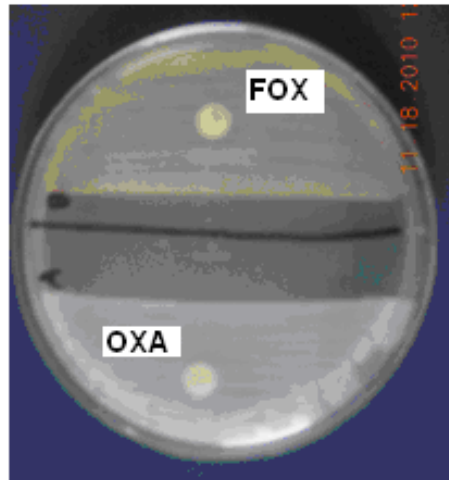
Tabla 6. Comparación entre pruebas empleadas para determinación de resistencia a oxacilina mediada por el gen *mecA*

Método	Resultado
Prueba de aglutinación Slidex® MRSA Detection	76 (100 %)
Prueba CLSI empleando cefoxitin	76 (100 %)



Figura 21. Comparación entre la prueba de aglutinación Slidex y la técnica establecida por CLSI (2010)

Método de CLSI empleando Cefoxitin para corroborar resistencia a Oxacilina mediada por el gen mecA



OXA = Oxacilina
FOX = Cefoxitin

Determinación de cepas MRSA mediante la detección de PBP'2 por el Método de aglutinación comercial "Slidex® MRSA Detection"

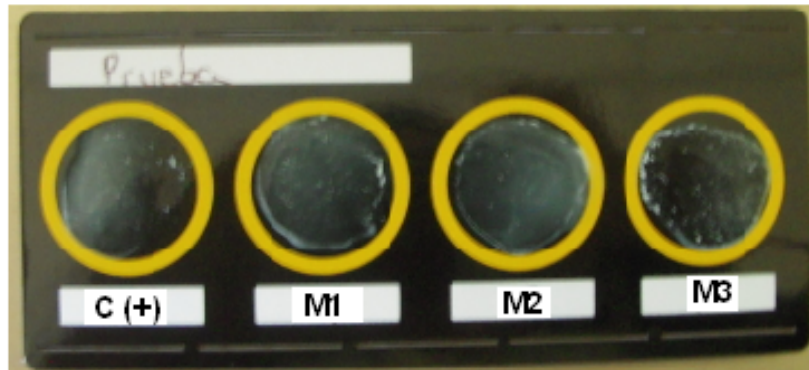
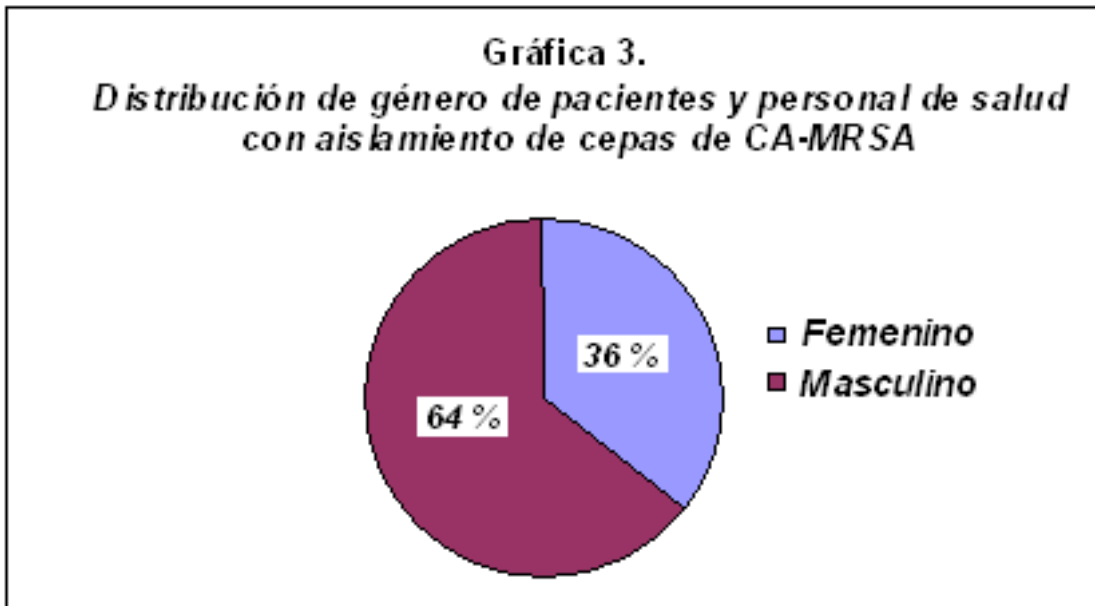


Tabla 7. Datos demográficos de pacientes y personal de salud con infección de CA-MRSA

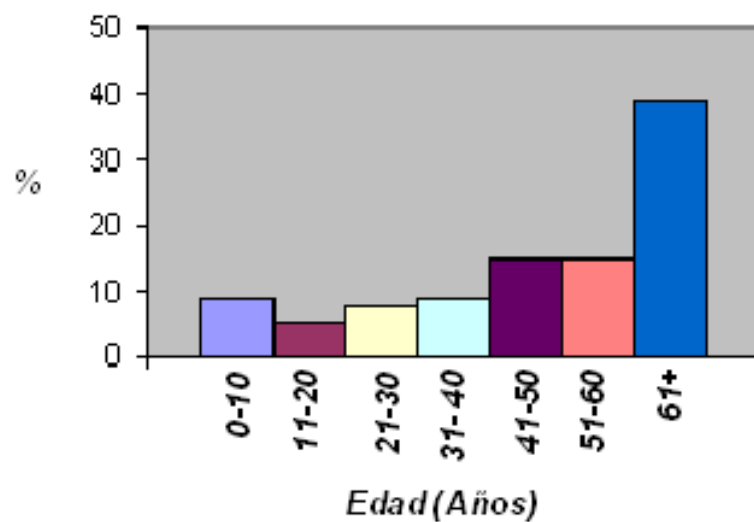
Característica	CA-MRSA
Sexo n (%)	
Femenino	27 (36)
Masculino	49 (64)
Grupos de edad n (%)	
0-10	7 (9)
11-20	4 (5)
21-30	6 (8)
31-40	7 (9)
41-50	11 (15)
51-60	11 (15)
61+	30 (39)





Gráfica 4.

Distribución de edades de pacientes y personal de salud con aislamiento de cepas de CA-MRSA



7. DISCUSIÓN

La importancia de *Staphylococcus aureus* como una de las causas más comunes de infecciones adquiridas en la comunidad y de origen nosocomial es que tiene como consecuencia elevadas tasas de mortalidad y morbilidad; por lo que son un problema de salud pública en el mundo.⁵

Hasta hace pocos años las infecciones por *S. aureus* meticilina resistentes generalmente se adquirían dentro de los hospitales; sin embargo, a finales de los años 90, emergieron cepas MRSA en adultos y niños sanos en las comunidades.^{4,19} La adquisición de estas cepas se realiza fuera de los factores tradicionales de riesgo de las cepas MRSA hospitalarias, son susceptibles a pocos antibióticos y presentan la inclusión de factores de virulencia específicos. Las cepas de *S. aureus* que causan estas infecciones se han denominado cepas MRSA adquiridas en la comunidad ("community-acquired MRSA", CA-MRSA).^{4,19}

En este contexto, los portadores nasales de *S. aureus* juegan un papel importante en la epidemiología y patogénesis de la enfermedad por MRSA pudiendo actuar como reservorios de CA-MRSA; las narinas son colonizadas densamente y suele persistir durante años en 10 y 20 % de las personas afectadas. Entre 25 y 50 % de los portadores nasales también llevan el microorganismo en manos y piel.^{1,4}

Por lo anterior, en el INCICH se efectúa como parte de la erradicación de focos sépticos y del programa de control de resistencias antimicrobianas, exudados nasales en busca de *S. aureus* a todos los pacientes con posibilidad de ser beneficiarios de tratamiento quirúrgico, en hemodiálisis o urgencias así como al personal de nuevo ingreso e involucrado en el área de cirugía y medicina crítica.

Para ello en el periodo comprendido de septiembre 2008 y septiembre 2010 se realizaron 11022 exudados nasales de los cuales en un total de 2922 (26.51%) se obtuvo el aislamiento de *Staphylococcus aureus*, de estos 2769 (26.60 %) corresponden a pacientes y 153 (24.9 %) a personal de salud que presta sus servicios en el INCICH, la tabla 2 muestra la frecuencia de colonización por *S. aureus* en los grupos y la distribución de los mismos se observa en el gráfico 1.



Del total de 2922 de *S. aureus* aislados, 76 mostraron resistencia a oxacilina, de estas cepas 73 correspondieron a pacientes y 3 a personal de salud (Ver tabla 3 y 4)

Basados en el aislamiento e identificación fenotípica la frecuencia de 26.6. % entre los pacientes es relativamente alta con 24.9 % respectiva al personal de salud, demostrando que una proporción importante de pacientes beneficiarios del servicio son portadores de *Staphylococcus aureus*; observándose que la frecuencia de colonización por *S. aureus* es baja comparada con otras poblaciones; sin embargo la frecuencia de cepas MRSA en personal de salud (1.96 %) y pacientes (2.63 %) es relativamente alta comparada con los estudios realizados en E.U.

La frecuencia de los portadores nasales de *S. aureus* varía de acuerdo a la población estudiada. En una revisión realizada por Kluytmans y col en 1997, se muestra que el índice de portadores en el personal hospitalario varía de acuerdo al estudio realizado entre el 16.8 % a 56.1 %, y en pacientes ambulatorios varía entre 10.2 % a 85,0 %.⁵⁵

En EUA los CDC, han realizado recientemente un estudio nacional para determinar la prevalencia y colonización de *S. aureus* y cepas MRSA en la población. En este estudio se encontró que el 32.4 % de la población es portadora de *S. aureus* y el 0.8 % esta colonizado con cepas MRSA. Se estima que 89.4 millones de estadounidenses presentan *S. aureus* y 2.3 millones son portadores de cepas MRSA.⁴

Otro estudio revela que en los años 2003-2004, aproximadamente el 24 % (78,9 millones de personas) y el 1.5 % (4.1 millones de personas) de la población de EE.UU. fue colonizada en las fosas nasales con *S. aureus* y MRSA, respectivamente.³⁷

Estudios indican que si bien un 25% a 30% de la población es colonizada por estafilococos, aproximadamente el 1% es colonizada por MRSA.³⁵ coincidiendo con los resultados obtenidos en el INCICH 26.51 % por colonización de *Staphylococcus aureus*.

Los resultados obtenidos permiten tener una visión general de las medidas a tomar en el INCICH, acrecentando la preocupación por un mejor sistema de monitoreo en los pacientes de nuevo ingreso, así como extremar medidas de erradicación como la administración oportuna de dicloxacilina y mupirocina en



un periodo de 10 días a todos los portadores de *S. aureus* sensible y rifampicina / mupirocina a los resistentes.

Es necesario recordar que *Staphylococcus aureus* se encuentra como comensal y patógeno extremadamente versátil en humanos con una compleja patogenicidad que lo hace causante de tres síndromes conocidos: infecciones cutáneas, infecciones profundas y sistémicas y síndromes tóxicos.²⁰

La importancia de conocer la frecuencia de este microorganismo es su transmisión en el medio hospitalario a través de pacientes, visitantes o trabajadores sanitarios, teniendo la capacidad para producir infecciones en heridas e implantaciones quirúrgicas. Debido a esto los portadores de *Staphylococcus aureus* son un factor de riesgo importante en la infección por este microorganismo, tanto en la comunidad como en los hospitales.⁴

El Instituto donde se desarrolló el proyecto experimental tiene por especialidad cardiología, los principales motivos de ingreso de pacientes al INCICH son entre otros, cardiopatía congénita y cardiopatía reumática y valvulopatías de diversos orígenes y el 80% de las cardiopatías congénitas tratadas quirúrgicamente corresponden a lesiones complejas, además se realizan en promedio más de 1500 cirugías por año, con una distribución de 79% para cirugía cardíaca y el restante 21% para cirugía no cardíaca relacionada con este tipo de padecimientos,⁵⁴ se sabe que los pacientes que portan *S. aureus* en las narinas antes de ser sometidos a cirugía, tienen mayor probabilidad de desarrollar infecciones en el sitio quirúrgico que aquellos que no portan este microorganismo.

Un estudio realizado en E.U. afirma que las infecciones que se producen en cirugías de alto riesgo y cardíacas, principalmente por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA), multiplican por 7 el riesgo de muerte del paciente, aumentan 35 veces el riesgo de reingreso hospitalario, provocan más de 3 semanas de hospitalización adicional y conllevan más de 60.000 dólares de gastos adicionales en comparación con los casos no infectados.⁴⁸

Los datos mencionados abren un panorama de que aún cuando la frecuencia de cepas MRSA en los grupos de estudio es alta comparada con otras poblaciones, por ejemplo E.U., constituye un indicador de la efectividad de las medidas de prevención que ha desarrollado el INCICH, ya que en el periodo de estudio del número total de casos correspondientes a pacientes (73 casos) solo



2 desarrollaron infecciones clínicamente severas durante su estancia hospitalaria.

Las cepas MRSA son un tipo de estafilococo que es resistente a los antibióticos llamados β -lactámicos; por ello se sugiere utilizar para su erradicación antibióticos con efectos adversos como vancomicina; por lo que, esto aumenta un riesgo a nivel hospitalario provocando la aparición de cepas resistentes y en pacientes causando daño hepático y renal.

Desde el punto de vista clínico las infecciones por MRSA, no difieren de las producidas por *S. aureus* sensibles a meticilina y por tanto, las cepas resistentes tienen la misma capacidad patogénica para colonizar y causar infección. La multiresistencia en MRSA es un factor clave de trascendencia clínico-terapéutica y sobre los costes sanitarios, por la necesidad de tratamientos con antibióticos parenterales, el tiempo y las dosis. La detección y control de infecciones por *S. aureus* pasa por una serie de fases constitutivas: a) diagnóstico y control de las infecciones o colonizaciones, y detección precoz de casos MRSA; b) realización de controles para detección de reservorios; c) realización de cultivos de vigilancia; d) establecer sistemas de información sobre áreas y extensión de brotes; e) estudio de la sensibilidad de las cepas circulantes y f) caracterización fenotípica y genotípica de los aislamientos.²

Por lo que, el laboratorio de microbiología es parte fundamental en el programa para la detección e identificación oportuna y confiable de cepas; así como, en el control y vigilancia de las infecciones y cada vez mas se necesita disponer de medios de identificación rápidos de estas cepas resistentes a meticilina.

Se han utilizado una gran variedad de métodos de tipificación, el más común, difusión en agar con discos de antibióticos (Kirby-Bauer).² Según lo recomendado por CLSI (2010), se empleo el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), para la determinación de resistencia antimicrobiana.

Se seleccionaron 4 antibióticos de elección en el tratamiento clasificados en los grupos A y B trimetoprima/sulfametoxazol, claritromicina, tetraciclina y rifampicina, la resistencia a meticilina resultó ser un marcador útil en la selección de los agentes antimicrobianos.

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos para las 76 cepas analizadas, una de las características importantes que destaca la importancia de las cepas MRSA es que presentan resistencia múltiple a antimicrobianos; sin embargo,



en los resultados se observa que tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol y rifampicina fueron los antimicrobianos más activa utilizados en este estudio y todos los aislamientos fueron uniformemente sensibles (tetraciclina 99 %, trimetoprima/sulfametoxazol 97 %, rifampicina 96 %), no así para claritromicina (16 %).

El tratamiento tentativo para infecciones causadas por MRSA, incluye desde métodos físicos para lesiones cutáneas (drenar la herida) hasta la administración de diversos fármacos entre los que se incluyen clindamicina, daptomicina, doxiciclina, linezolid, minociclina, tetraciclina, trimetoprima con sulfametoxazol y vancomicina.⁵¹

El gráfico 2 permite observar la sensibilidad antimicrobiana obtenida en el proyecto experimental, por tanto, es de vital importancia resaltar que aún existen alternativas viables para el tratamiento de estas infecciones.

Aun cuando en los resultados experimentales se observan resultados positivos para el tratamiento de infecciones MRSA, no hay que perder de vista que cada día la adquisición de resistencia de estas bacterias continua en aumento y en la actualidad se han reportado los primeros casos de fracaso terapéutico a vancomicina ²¹ por lo tanto, la labor del profesional de salud es seguir implementando Comités de Vigilancia y Protocolos que permitan el control de dichas cepas.

Los resultados obtenidos de resistencia a oxacilina en las 76 cepas por el método de difusión en disco se corroboraron por ensayo de screening establecido por CLSI (2010) siendo positivo en todos los casos. (Ver figura 20). Aunque el método de difusión en disco es ampliamente utilizado en los laboratorios, cabe destacar que puede tener inconvenientes, entre los que se encuentran su baja capacidad de detección de cepas con resistencia heterogénea, en la cual estudios revelan que su sensibilidad de detección disminuye a 61 % ⁵²; otro inconveniente respecto a la técnica es el grado de apreciación de quién ejecuta las lecturas, que involucra el instrumento de medición, el uso correcto de luz (transmitida o reflejada), e incluso la forma en que se prepara la suspensión bacteriana. ¹⁴

Las cepas MRSA se caracterizan por tener en el ADN cromosomal, el gen mec, que contiene el gen mecA (gen estructural que codifica para PBP2a), cuya transcripción es regulada por mecl y mecRI.¹⁵



De acuerdo a normas internacionales ⁴⁴ la detección del gen *mecA*, al margen de cualquier resultado fenotípico con antimicrobianos, debe ser reportado como “meticilina resistente”. De lo anterior se puede decir que la expresión fenotípica, no es tan determinante como la genotípica, incluso la detección del gen *mecA*, es considerada como la prueba “Gold Standard” para la resistencia a meticilina.^{46,52} La importancia de identificar el gen *mecA* en los aislamientos de *Staphylococcus aureus* radica en que cuando se detecta una cepa resistente a meticilina, ninguna otra penicilina resistente a β -lactamasas, cefalosporinas, combinación de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas o, incluso imipenem, será eficaz para el tratamiento de este microorganismo, con independencia de que las distintas cepas muestren sensibilidad *in vitro* en los estudios de laboratorio, reduciendo así las opciones terapéuticas y por consecuencia aumentando el índice de mortalidad en los pacientes.

El método del kit Slidex MRSA, aplicado para la detección de la proteína PBP2a no se encuentra explícitamente sugerido por CLSI (2010) pero se encuentra aprobado por FDA. Existen reportes del uso del mismo, que muestran resultados óptimos con una sensibilidad de detección del 97 %.^{45,52}

En el estudio realizado a las 76 cepas que presentaron resistencia a meticilina, los resultados fueron concordantes en 100 % con el método sugerido por CLSI para determinar la resistencia a meticilina mediada por el gen *mecA* (Ver tabla 6), en el cual se emplea cefoxitin como marcador de resistencia a meticilina.

En el estudio, el método comercial resulto ser eficaz, pero la técnica conlleva puntos críticos, que son necesarios tomar en cuenta, por ejemplo, la lectura de reacción. Estudios han demostrado que el resultado varía según el tiempo de lectura, el fabricante recomienda que esta sea en 3 minutos, pero un informe reciente afirma que si la lectura de reacción se lleva a cabo al término de 15 minutos aumenta la tasa de detección en 100 %. Otros estudios realizados demuestran que al emplear cepas inducidas antes de la prueba, inóculos más grandes o tiempos de aglutinación mayor, la sensibilidad de detección se incrementa sin sacrificar la especificidad, pero la especificidad disminuye si la aglutinación temporal es mayor a 15 minutos.⁵²

En los datos demográficos analizados se observa que existen diferencias respecto a los portadores del género masculino y femenino, siendo



representativo en el género masculino con un 64 % (Ver gráfico 3) y en los grupos de edad en personas mayores de 61 años, 39 % (Ver gráfico 4).

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), da a conocer que entre las principales causas de morbilidad y mortalidad se encuentran las enfermedades cardiacas siendo la principal causa de muerte en el género masculino.⁵³ En tanto que en el INCICH aproximadamente tres cuartas partes de la población se localizan entre los grupos de edad de 30 a mayores de 60 años y en su mayoría personas del género masculino.

Por lo anterior los resultados demográficos arrojados solo pueden aplicar para observar el panorama general en el Instituto.

Dadas las repercusiones a nivel clínico que tiene *Staphylococcus aureus* y las cepas MRSA, el INCICH a través del Comité de Infectología y del Programa de Control de Resistencias Antimicrobianas ha establecido como medidas de prevención:

- Cultivo de exudado nasal a todo el personal de cirugía anualmente.
- Cultivo de exudado nasal a todo el personal de nuevo ingreso.
- Cultivo de exudado nasal a todos los pacientes que serán sometidos a cirugía cardiovascular.
- Proporcionar tratamiento de erradicación a toda persona que resulte portador de *Staphylococcus aureus*.

Así como medidas de prevención habituales como el lavado de manos antes y después de cualquier contacto con personas infectadas, además del uso de guantes y bata.



8. CONCLUSIONES

- De un total de 11022 exudados nasales realizados en el periodo de septiembre 2008 a septiembre 2010 se observa una frecuencia de 26.51 % para *Staphylococcus aureus*.
- La frecuencia de portadores de *Staphylococcus aureus* en pacientes y personal de salud del INCICH es de 26.6 % y 24.9 % respectivamente.
- La resistencia a meticilina como marcador en la selección de los agentes antimicrobianos se corroboró mediante la prueba de screening y empleando cefoxitin como marcador de resistencia a meticilina mediada por el gen *mecA*, encontrándose una concordancia de 100 %
- De las cepas confirmadas MRSA, 2.63 % fueron aislados de pacientes extrahospitalarios y 1.96 % de personal de salud.
- Tetraciclina (99 %), trimetoprima/sulfametoxazol (97 %) y rifampicina (96 %) fueron los antimicrobianos más activos utilizados en este estudio y todos los aislamientos fueron uniformemente sensibles, no así para claritromicina (16%).
- Se identificó la presencia del gen *mecA* en los 76 aislamientos de MRSA con una prueba comercial "Slidex MRSA" mediante la detección del producto de expresión (proteína PBP2').
- Existe concordancia del 100 % entre el método comercial Slidex MRSA y el método sugerido por CLSI (2010) en el cual se emplea cefoxitin como marcador, confirmando su utilidad en detección de cepas MRSA en el laboratorio de microbiología.
- Debido a la complejidad para discernir entre el origen de las cepas CA-MRSA y HA-MRSA y a su vez las características de las misma, es necesario emplear técnicas de análisis molecular que permiten una mayor sensibilidad y especificidad.
- Al encontrar personal de salud portadores de MRSA, se deduce: riesgo ocupacional paciente-profesional, así como riesgo de infecciones cruzadas profesional-paciente y entre pacientes.
- En el INCICH se presta atención a pacientes candidatos a cirugía de alto riesgo como cardíaco, por tanto, es importante la detección oportuna de



cepas de *S. aureus* y MRSA de los pacientes y del personal médico y de enfermería.

- Las evaluaciones periódicas de portadores nasales de *S. aureus* en el personal hospitalario permiten conocer el estado de portadores nasales de *S. aureus* transitorio o persistente y establecer una medida de vigilancia a fin de evitar que la infección se propague en el contexto nosocomial.
- Resulta imperativo la elaboración y aplicación de protocolos de medidas en el control de infecciones y seguridad ocupacional en el área de cirugía y medicina crítica del INCICh, para la prevención y manejo de portadores sanos tanto para el grupo de personal de salud como en los pacientes que se encuentran, lo cual permitirá delimitar la transmisión de infección por MRSA.
- Aunque las cepas multirresistentes son un hecho palpable es necesario establecer medidas de seguridad y difundir los conocimientos necesarios para la prevención de las mismas tanto a nivel comunidad como hospitalarias.



9. SUGERENCIAS

1. La tipificación de las cepas MRSA se puede hacer por métodos fenotípicos y moleculares. La primera parte de este estudio se realizó por los mencionados primeramente, los cuales han sido útiles pero algunos pueden presentar desventajas por tener limitaciones respecto a la sensibilidad, e incluso algunos no son aplicables a todas las cepas de *S. aureus*.

Los métodos moleculares de tipificación se han empleado recientemente y en mayor frecuencia en estudios de epidemiología molecular de MRSA, lo cual ha permitido entender mejor las relaciones evolutivas de estas clonas. Por tanto, la segunda parte del trabajo consiste en identificar las clonas relacionadas a estas cepas, con el fin de detectar brotes y reducir infecciones nosocomiales.

2. Las cepas CA-MRSA presentan características diferentes a las cepas HA-MRSA destacando por su habilidad para colonizar eficientemente y por poseer factores de virulencia que les permiten causar diversas enfermedades. Lo anterior ha provocado una alerta entre los centros y organizaciones de salud a nivel hospitalario, por tanto, es labor del laboratorio de microbiología establecer técnicas estandarizadas y eficaces para la detección de cepas MRSA en el ámbito clínico a nivel de asistencia primaria (laboratorios particulares y clínica) con el objetivo de establecer medidas sanitarias para controlar la reemergencia de estas cepas y, de ser posible, erradicarlo a tiempo para evitar que se convierta en una amenaza para la comunidad.



10. REFERENCIAS

1. González Saldaña, Napoleón. Infectología Clínica Pediátrica. 7ª ed. México: McGraw-Hill; 2004. Pp. 424-438, 1142.
2. J. Camarena, Juan y Roberto Sánchez. Infección por *Staphylococcus aureus* Resistente a meticilina. Control de Calidad. Valencia. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset.
3. Brooks, G. F., J. S. Butel, S.A. Moise. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 18ª ed. Traducida de la 23ª edición en inglés. México: El Manual Moderno. 2005. Pp. 220-222
4. Bustos-Martínez, J.A., A. Hamdan-Partida, M. Gutiérrez- Cárdenas. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomedic. 17:287-305
5. Velázquez Meza ME. 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. Salud Pública. 47:381-387
6. Garza Velasco, Raúl. Bacterias Patógenas Parte III. México: UNAM, Facultad de Química. 2007. Pp. 5-25
7. Calderón Jaimes, Ernesto. Aplicación Clínica de Antibióticos y Quimioterápicos. 7ª ed. México: Dr. Ernesto Calderon Jaimes editores. 1997. Pp. 7-9, 20-27, 33
8. Garza Velasco, Raúl. Bacterias Patógenas Parte IV. México: UNAM, Facultad de Química. 2007. Pp. 57-71, 91-95
9. Mar Marín y Francesc Gudiol. 2002. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 21(1):42-55
10. J. A, Martínez. F. Sánchez. 2007. Mecanismos de acción de los antibióticos. JANO. No.1.660:28-34
11. Flanklin D. Lowy. 2003. Antimicrobial resistance: the example of S. aureus. The Journal of Clinical Investigation. Vol. 111. No. 9:1265-1273
12. Espinosa López, Fdo. Terapéutica en enfermedades infecciosas.. Tomo IV. México: Corporativo Intermedica. 1997. Pp. 539-560, 577-605
13. Prescott, Lansing. Microbiología. 5ª Ed. México: McGraw-Hill. 2009
14. J. Cavalieri, Stephen et. al. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiano. Washington, D.C: American Society for Microbiology. 2009



-
15. Gil. D. M. Mónica. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect. 17(2):145-152
 16. Patricia Saltigeral Simental. Guía de antimicrobianos. 8ª ed. México: Nieto. 2008. Pp. 91, 115-116, 101,145
 17. Rodríguez Carranza, Rodolfo. Vademecum académico de medicamentos. 5 Ed. México: McGraw-Hill; 2009
 18. Castro-Orozco, Raimundo, Villafane-Ferrer, Lucy M, Alvarez-Rivera, Eduviges et al. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children attending school in Cartagena, Colombia. Rev. Salud Pública, vol.12, no.3:454-463.
 19. Huang, H. Et. Al. (2006). Comparison of Community- Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Hospital-Associated MSRA Infections in Sacramento, California. Journal of Clinical Microbiology. Vol 44. No. 7:2423-2427
 20. Jarraud, et.al. (2002). Relationships between *Staphylococcus aureus* Genetic Background, Virulence Factors, agr Groups (Alleles) and Human Disease. Infection and Immunity. Vol. 70 No. 2: 631-641
 21. Rodríguez, Carlos. Omar, Vesga. (2005). *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. Biomédica 25:575-87
 22. Y. Ktayama, T. ITO. Hiramatsu K. (2000). A new Class of Genetic Element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome mec, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 44. No. 6:1549-1555
 23. Deurenberg. R. H. et. Al. (2007). The molecular evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol Infect 13:222-235
 24. Paganini, Hugo. Et. Al. (2009) Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquiridas en la comunidad en niños antes sanos y en niños relacionados al hospital en la Argentina. Rev. Chil. Infec. 26 (5):406-412
 25. Palombarani, S. et.al. (2007). Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital de agudos. Revista Argentina de Microbiología 39:151-155

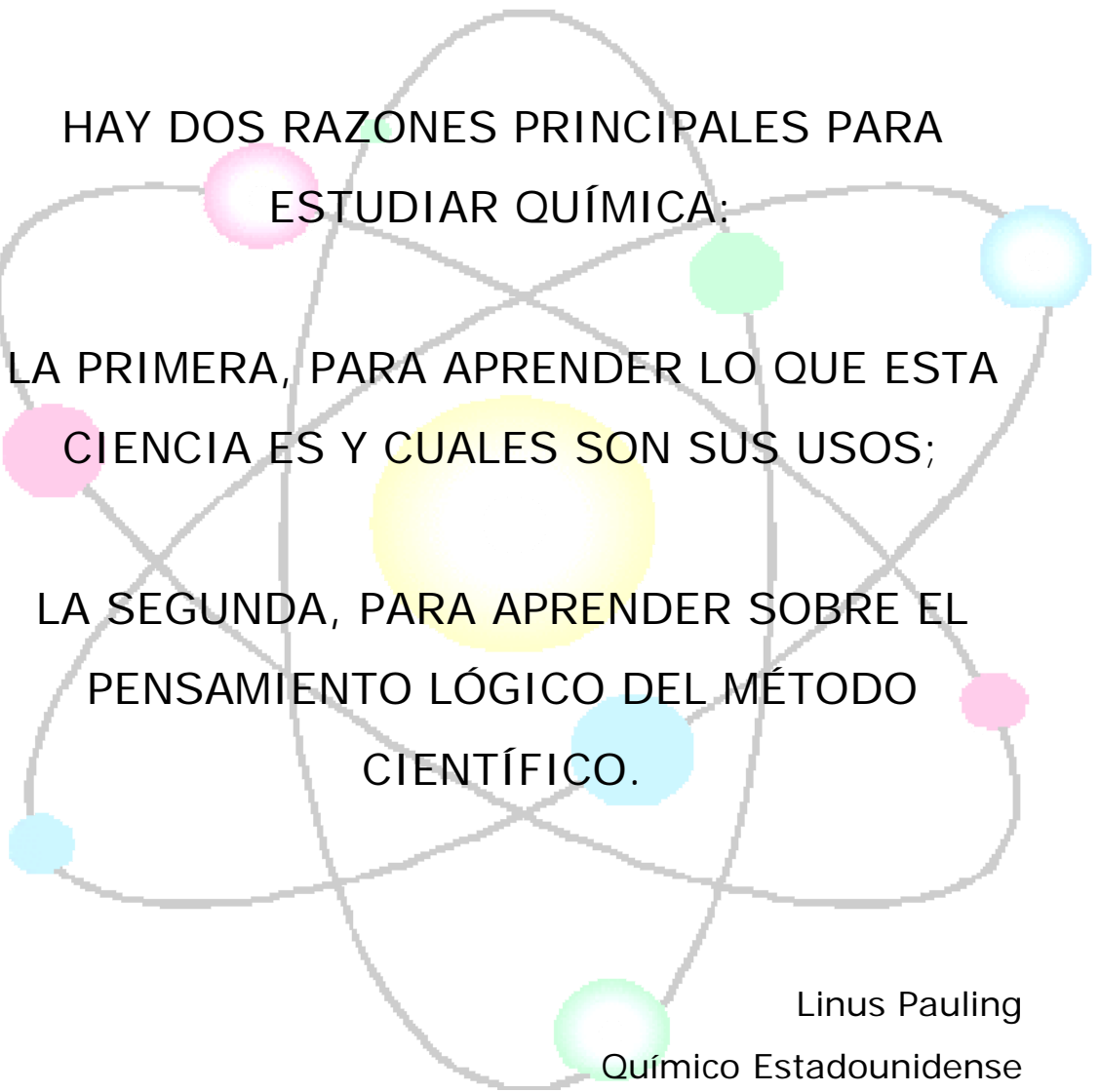


-
26. Navarro-Navarro, Moises. Et.al. (2008). Baja Prevalencia de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina en Cepas Aisladas en el Laboratorio Clínico del Hospital Infantil del Estado de Sonora. Bol. Clin. Hosp. Infant. Edo. Son. 25(1):3-7
 27. Jiménez Quinceno, Judith. Margarita, Correa Ochoa. 2009. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. IATREIA. Vol. 22. No. 2:147-158
 28. Koneman. Diagnostico Microbiológico. Texto y Atlas 5 Ed. México: Médica Panamericana, 2005. pp. 532-535
 29. Murray, P. R. Microbiología Médica. 4 Ed. Elsevier. España. Pp 182-185, 188-189, 198-209
 30. Dinges, M.m., P.M. Orwin, and P.M. Schlievert. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 13:16-34
 31. Jesús, Rodríguez-Baño. Alvaro, Pascual. (2004). Microorganismos multirresistentes, ¿adquisición nosomial o comunitaria? Enferm Infecc Microbiol Clin. 22(9):505-6
 32. Rosenblatt-Farrell, Noah. (2009). El paisaje de la resistencia a los antibióticos. Salud Pública México. Vol 51. No. 5. 435-444
 33. Bergey's Manual of systematic bacteriology. 2001. New York. Springer.
 34. Lippincott, Williams. (2000). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. New York. Pp. 532
 35. Centers for Disease Control and Prevention. [en línea] [Fecha de acceso 7 de enero 2011] URL: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa.html
 36. Hernández, Cesia. Actualización en *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. [en línea] [Fecha de acceso 7 de enero 2011] URL disponible en: <http://www.revistadelmicrobiologo.org>
 37. Gorwitz RJ. et al. *Journal of Infectious Diseases*. 2008;197:1226-34.
 38. Klein E. et al. *Emerging Infectious Diseases*. 2007;13:1840-6.
 39. RM Klevens et al. 2006. *Clínica Enfermedades Infecciosas*;. 42:389-91
 40. Hidron AI. et al *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;. 29:996-1011
 41. Burton, D, et al *JAMA* 2009;.. 301 (7) :727-736
 42. Hersh. et al. *Arch Intern Med* 2008;. 168:1585-91
 43. Moran GJ et al *New England Journal de Medicina* 2009;. 355:666-74



-
44. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2010. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement. Vol. 30 No. 1. Table 2C, M02, M07, M100-S20. Pp. 60-68,70
 45. Loui. L. Evaluation of Three Rapid Methods for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol 2000; 38:2170-2173
 46. A. Vázquez, M. et.al. (2008). Asociación de genes implicados en la codificación de proteína de unión a penicilina 2a (pbp2a) con la expresión fenotípica de resistencia a la meticilina en cepas de *Staphylococcus* spp. Vol. 53. (1):31-37
 47. Rubin, R. Emerging. Inf. Dis; 5, 1999
 48. Anderson DJ, Kaye KS, Chen LF, Schmader KE, Choi Y, et al. (2009) Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study. PLoS ONE 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305
 49. Javier Murillas. Curso de antimicrobianos 2008. Implicaciones Pronósticas. [diapositivas] Hospital Son Dureta . Medicina Interna. 2008. URL disponible en:
http://www.elcomprimido.com/FARHSD/CursoAntimicrobianos2008/Murillas_ImplicacionesPronosticas_13_03_2008.ppt.
 50. Ariza, Javier. Taller de Infección Nosocomial. III Reunión Informativa SOGAMI. [diapositivas] Hospital Universitario de Bellvitge. 2005.
 51. Instituto Nacional de la Salud. MedlinePlus. Información de salud para usted. [en línea] [Fecha de acceso 11 de enero 2011] URL disponible en:
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/007261.htm>
 52. M. Swenson, Jana. Et.al. Performance of Eight Methods, Including Two New Rapid Methods, for Detection of Oxacillin Resistance in a Challenge Set of *Staphylococcus aureus* Organisms. Journal Of Clinical Microbiology 2001;39(10): 3785-3788
 53. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [en línea] [Fecha de acceso: 2 de febrero 2011] URL disponible en:
<http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/defunciones.aspx?tema=P>
 54. Programa de trabajo 2005-2010 Dr. Fause Attie. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.





Linus Pauling

Químico Estadounidense

(1901-1994)

