



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*  
AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS DEL  
HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ”, DE LA  
CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE  
(Modalidad: Investigación)

LEIDY YECENIA GÁMEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2010

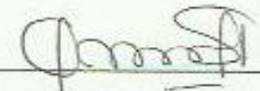
RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*  
AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS DEL  
HOSPITAL UNIVERSITARIO "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ",  
DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:



---

Prof. Elsa Salazar de V.  
Asesora



---

Jurado



---

Jurado

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	10
Cepas bacterianas .....	10
Subcultivo de cepas.....	10
Estudio Bacteriológico .....	10
Prueba de catalasa .....	11
Fermentación de manitol.....	11
Prueba de coagulasa en tubo .....	11
Prueba de ADNasa .....	12
Susceptibilidad Antimicrobiana .....	12
Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a vancomicina .....	13
Mecanismos de resistencia .....	13
Producción de $\beta$ -lactamasas .....	13
Predicción de resistencia a oxacilina mediada por el gen <i>mecA</i> .....	13
Determinación de resistencia a meticilina en <i>S. aureus</i> (Screening de oxacilina) ...	13
Determinación de la PBP2a .....	14
Determinación del fenotipo $MLS_B$ en <i>S. aureus</i> .....	14
Control de Calidad .....	15
Análisis Estadístico .....	15
RESULTADOS .....	16
DISCUSIÓN .....	25
CONCLUSIONES .....	34
RECOMENDACIONES.....	35
APÉNDICE.....	45
HOJA DE METADATOS .....	53

## **DEDICATORIA**

A

Jehová Dios, por haber permitido ser parte de este mundo y darme la maravillosa familia que tengo.

Mi madre Hilda Angélica Gámez, por haberme dado el ser y ser pilar fundamental en mi formación.

Mi padre Salvador Pérez Hernández, quien a sido imagen a seguir y por todo tu apoyo a lo largo de mis estudios.

Mis hermanos: Guillermo Pérez y Javier Pérez, su amor para conmigo es importante, y me dio fuerzas para seguir adelante y que este triunfo sea de inspiración y enseñanza.

Mi abuela Pedra Meza, mi segunda madre, gracias por estar pendiente de mi.

Mis tíos (as) Hilda Esperanza Gámez, Ricardo Gouveia, Omar Meza, María José Gouveia de Meza y Javier Meza, por estar siempre conmigo y haberme ayudado en cuanto han podido.

Todos mis primos (as), desde el mas pequeño al mas grande, que este logro obtenido sirva de ejemplo a seguir.

## **AGRADECIMIENTOS**

A

La profesora Elsa Salazar por ser la guía en la ejecución de este trabajo.

La Licda. Belkis Medina, la Licda María Marcano y personal que labora en el laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, por prestar su valiosa colaboración en la recolección de las muestras biológicas de esta investigación.

Los (as) médicos (as) y enfermeras (os) de los diferentes servicios de hospitalización, consulta y ambulatorio del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

Esta tesis forma parte de un proyecto LOCTI (la Ley Orgánica de Ciencia, Tecnología e Innovación), financiado por la empresa privada Aluminios PIPO, C.A., Toyota Prosperi y Centro de especialidades, Carúpano, a través de la Corporación Parque Tecnológico de Oriente.Universidad de Oriente.

La Fundación para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología del estado Sucre (FUNDACITE-Sucre).

Todas aquellas personas que desinteresadamente cooperaron en la realización de este trabajo.

Todas aquellas personas en su condición de paciente, por haberme permitido acercarme a ellos en un momento tan difícil y, de igual manera, darme la oportunidad de realizar este estudio.

Victor José Romero Ruíz y Diorelis González, por su valiosa ayuda.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resultados del método de screening con oxacilina y la detección de la proteína ligadora de penicilina en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. ....	19
<b>Tabla 2.</b> Distribución porcentual del tipo de resistencia en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> oxacilino resistentes, de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. ....	19
<b>Tabla 3.</b> Distribución porcentual del fenotipo de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. ....	20
<b>Tabla 4.</b> Antibiótipos de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. ....	21
<b>Tabla 5.</b> Distribución de los antibiótipos expresados por las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , aisladas de los pacientes recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008, según el tratamiento antimicrobiano aplicado. ....	22
<b>Tabla 6.</b> Distribución de los antibiótipos expresados por las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , aisladas de pacientes ambulatorios atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008, según el tratamiento antimicrobiano aplicado. ....	23

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. P: penicilina; AM: ampicilina; OX: oxacilina; E: eritromicina; CC: clindamicina; GM: gentamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; RIF: rifampicina; SXT: trimetoprim-sulfametoxazol; VAN: vancomicina. .... 17
- Figura 2.** Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes ambulatorios que fueron atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. P: penicilina; AM: ampicilina; OX: oxacilina; E: eritromicina; CC: clindamicina; GM: gentamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; RIF: rifampicina; SXT: trimetoprim-sulfametoxazol; VAN: vancomicina. .... 18

## RESUMEN

Con el propósito de analizar los fenotipos de resistencia de las cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, durante el periodo julio-diciembre de 2008, se estudiaron 196 aislados identificados previamente como *Staphylococcus* sp., estas fueron corroboradas mediante pruebas bioquímicas convencionales; la susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante la prueba de difusión en agar, en el caso de vancomicina se determinó la concentración inhibitoria mínima. Se identificaron 83 cepas como *Staphylococcus* coagulasa negativo y 113 cepas como *Staphylococcus aureus*, de estas últimas, 55 se aislaron de pacientes hospitalizados y 58 de pacientes ambulatorios. La resistencia presentada por *S. aureus* a la penicilina fue de 89,1% para cepas de procedencia hospitalaria y un 77,6% para cepas ambulatorias, resultando productoras de  $\beta$ -lactamasas el 43,1% y 51,7% de las cepas, respectivamente. El 43,6% (24) de las cepas de *S. aureus* aisladas de los pacientes hospitalizados fueron oxacilina resistentes por el método de difusión en agar, de estas, 22 resultaron productoras de PBP2a y 2 posibles BORSA. En cuanto a las cepas ambulatorias, 24,1% (14) fueron oxacilina resistentes por el método de difusión en agar y presencia de PBP2a. La resistencia a eritromicina y clindamicina en cepas hospitalarias fue de 34,6% y 25,4%, mientras que en las de origen ambulatorio se obtuvo un 22,4% y 15%, respectivamente. La resistencia inducible a clindamicina fue similar en ambos grupos de estudio. Los agentes antimicrobianos como vancomicina y trimetoprim-sultametoxazol fueron activos en todas las cepas estudiadas. El antibiótipo II (P<sup>r</sup>, AM<sup>r</sup>, OX<sup>s</sup>, SAM<sup>s</sup>, GM<sup>s</sup>, E<sup>s</sup>, CC<sup>s</sup>, RIF<sup>s</sup>, TE<sup>s</sup>, CIP<sup>s</sup>) fue el más frecuente, tanto en las cepas obtenidas de pacientes hospitalizados (36,2%) como en las ambulatorias (34,5%). El 70,4% de los pacientes hospitalizados y 67,5% de los pacientes ambulatorios recibían antibioticoterapia previa a la toma de muestra, resultando los betalactámicos los mayormente empleados como tratamiento en ambos grupos.

Palabra y/o Frases Claves: *Staphylococcus aureus*, Infección hospitalaria y ambulatoria, Resistencia antimicrobiana, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, Fenotipos de resistencia.

## INTRODUCCIÓN

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 los mismos, según la división de las células en grupos semejantes a uvas (Kloos y Bannerman, 1995). Los estafilococos son bacterias Gram positivas agrupadas en parejas, tétradas, cadenas cortas, o de forma característica, como racimos irregulares, son inmóviles y no esporulados. El género *Staphylococcus* incluye actualmente 47 especies y 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas, con la excepción de *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie anaerobius, que son anaerobias estrictas (Camarena y Sánchez, 2000). *Staphylococcus aureus* se ha descrito como la especie de mayor importancia clínica dentro del género; puede encontrarse colonizando, principalmente, las fosas nasales en el 20,0% a 40,0% de los individuos y en una menor proporción en los pliegues cutáneos, el periné, las axilas y la vagina (Koneman *et al.*, 2008).

Para el aislamiento e identificación de cepas de *S. aureus* se debe inocular placas de agar sangre (preferiblemente de carnero al 5,0%); las cuales deben ser incubadas a 35-37°C por 24 horas. Las colonias desarrolladas en este medio se observan con un diámetro de 1 a 3 mm, lisas, elevadas, de consistencia mucóide, color crema amarillo dorado, debido a la producción de pigmentos carotenoides; algunas colonias pueden presentar una zona evidente o difusa de beta-hemólisis a su alrededor, propiedad hemolítica que se hace evidente solo después de una prolongada incubación (Koneman *et al.*, 2008).

Dentro de las principales características distintivas de *S. aureus* se encuentran la producción de coagulasa, sensibilidad al disco de novobiocina, actividad fosfatasa alcalina, producción de ácido a partir de D-manitol y producción de

desoxiribonucleasa termoestable (Kloos y Bannerman, 1995).

El éxito de la colonización y la producción de enfermedades por *S. aureus* se debe a la expresión de factores de virulencia que participan en adhesión, adquisición de nutrientes y evasión de la respuesta inmune del huésped (Monday y Bohach, 1999). Los factores de virulencia se clasifican en tres categorías: a) factores involucrados en la adherencia de la célula huésped o matriz extracelular, proteínas de unión a fibrinógeno, fibronectina, colágeno y coagulasa; b) factores involucrados en la evasión de las defensas del huésped, como las enterotoxinas estafilocócicas (Ses): SEA-SEE, SEG-J, SEK, SEL, SEP, SEM y SEO; la toxina 1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1), proteína A, lipasas y polisacáridos capsulares tipos 1, 5 y 8; c) factores involucrados en la invasión de la célula huésped y penetración de los tejidos, como las hemolisinas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\square$  y  $\delta$  (Projan y Novick, 1997; Jerraud *et al.*, 2001; Orwin *et al.*, 2001; Yamaguchi *et al.*, 2002).

En los hospitales, al menos, el 40,0% de las infecciones intrahospitalarias (IIH) son ocasionadas por bacterias Gram positivas, las cuales han igualado e incluso superado a las bacterias Gram negativas (García y Fresnadillo, 2000). En las últimas cuatro décadas, la aparición y diseminación de cepas de *S. aureus* resistentes a la oxacilina, también denominada *S. aureus* meticilina resistente (SARM) ha convertido a esta bacteria en la responsable de un gran número de infecciones intrahospitalarias en todos los continentes, aún cuando existan diferencias epidemiológicas importantes entre los distintos países e incluso entre las regiones de un mismo país (Velásquez *et al.*, 2002).

Desde el punto de vista clínico, las infecciones por SARM no difieren de las producidas por *S. aureus* sensible a la meticilina y, por tanto, las cepas resistentes tienen la misma capacidad patogénica para colonizar y causar infección, las más comunes son las infecciones de heridas quirúrgicas, bacteriemia, neumonía,

osteomielitis, artritis y la infección asociada al catéter intravascular o sondaje urinario. Entre las complicaciones potencialmente graves de la bacteriemia estafilocócica se encuentran el síndrome del shock séptico y las infecciones metastásicas (endocarditis aguda, miocarditis, pericarditis, meningitis, artritis, osteomielitis, neumonía y absesos) (Camarena y Sánchez, 2000).

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, tales como hospitales, clínicas y, en años recientes, en la comunidad (Camarena y Sánchez, 2002; Velázquez, 2005; Kanafani y Fowler, 2006).

La infección hospitalaria es aquella que se desarrolla durante la hospitalización del enfermo y que no se hallaba presente, o en período de incubación en el momento de su admisión en el centro hospitalario. Si el período de incubación de una enfermedad es desconocida, ésta se toma como infección intrahospitalaria cuando se desarrolle tras la hospitalización, aunque de forma arbitraria suele considerarse un período de tiempo mínimo de 48 horas después del ingreso. Una infección ya presente en el momento del ingreso puede catalogarse como intrahospitalaria si está relacionada directamente con un ingreso previo en el mismo hospital u otro. La aparición de una infección tras el alta del paciente debe considerarse infección hospitalaria si el contagio o colonización se produjo durante la estancia del paciente en el centro asistencial, aunque no se manifieste hasta después del alta (lo que sucede en el 25,0%-40,0% de los pacientes con infección de la herida operatoria, situación cada día más frecuente por el aumento de la cirugía de estancia corta) (Girón *et al.*, 2002).

Varios factores de riesgo se han descrito para adquirir infecciones por SARM en hospitales, entre ellos, se destaca la hospitalización en unidades de cuidados intensivos, permanencia prolongada del paciente, hemodiálisis; enfermedad

subyacente severa (diabetes, cáncer, inmunodepresión), procedimientos invasivos, presencia de catéteres o prótesis, exposición prolongada o recurrente a antibióticos y contacto estrecho con personal de la salud (Sattler *et al.*, 2002).

A finales de los años 90, se comunicó la emergencia de SARM adquirido en la comunidad como un patógeno que afecta a adultos y a niños sin los tradicionales factores de riesgo para la adquisición de SARM-hospitalaria, con sensibilidad a pocos antibióticos y factores de virulencia específicos (Naimi *et al.*, 2003; Weber, 2005).

La introducción de la penicilina a principios de los años 40, como tratamiento en 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 de *S. aureus* resistentes a la penicilina. Para 1946, en Inglaterra, se observó que, aproximadamente, un 60,0% de los aislamientos de estafilococos fueron resistentes a la penicilina y para mediados de 1950, los estudios mostraron altos porcentajes de cepas de *S. aureus* resistentes. Los primeros aislamientos de *S. aureus* multirresistentes fueron recobrados en 1957, y para esta fecha los estafilococos habían adquirido resistencia a la gran mayoría de antibióticos disponibles. Actualmente, se reporta una resistencia a la penicilina del 80,0%- 93,0% o más, tanto en cepas de *S. aureus* aisladas de hospitales como de la comunidad (Velázquez, 2005; Kanafani y Fowler, 2006).

El gen *mecA* es el responsable de la resistencia a la meticilina en los estafilococos. Este gen, de aproximadamente 2 kb, se encuentra integrado en el ADN bacteriano. La transcripción del gen *mecA* genera una proteína, denominada PBP2a ó PBP2', con actividad transpeptidasa y con baja afinidad por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. En presencia de estos antibióticos, todas las PBP de *S. aureus* están inhibidas, a excepción de la PBP2a, la cual sería la responsable de seguir con la síntesis de la pared celular bacteriana (Chambers *et al.*, 1989;

Chambers, 1997).

La resistencia a la meticilina en *S. aureus*, también puede detectarse en cepas que no poseen el gen *mecA*; se trata de la resistencia borderline a oxacilina por *S. aureus* (BORSA) y a una resistencia modificada (MODSA). La primera es debida a una hiperproducción de betalactamasas estafilocócica, mediada por plasmidos; presentando una resistencia límite a oxacilina y, la segunda, se debe a la existencia de PBP normales modificadas (PBP 1 y 2 de baja afinidad) y a una mayor concentración de PBP4. Al igual que el mecanismo anterior, la resistencia observada es límite (Gil, 2000; Sopena, 2002).

La resistencia a la meticilina es un fenómeno complejo con expresión variable y multifactorial, lo que puede dificultar su expresión en el laboratorio. La resistencia a meticilina puede ser heterogénea u homogénea, debido a que la expresión fenotípica del gen *mecA*, es afectada por muchos factores. Las cepas de *S. aureus* con resistencia heterogénea (más frecuente) se caracterizan porque sólo una pequeña subpoblación bacteriana ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ ) sobrevive a concentraciones de oxacilina superiores a 10 µg/ml, mientras que la mayor parte de la población muere con bajas concentraciones del antibiótico. Estas cepas se caracterizan porque presentan gran heterogeneidad en el tamaño de las colonias cuando crecen en agar. Sin embargo, las cepas resistentes a oxacilina con expresión homogénea se caracterizan porque toda la población bacteriana crece, incluso a altas concentraciones del fármaco y con independencia de las condiciones de incubación; las colonias son de similar tamaño. Se ha demostrado que es posible la transformación de una expresión heterogénea a una homogénea, y esto se encuentra asociado a la selección de mutaciones cromosómicas, reorganizaciones genéticas, incremento de la producción de PBP2a o el pasaje de cepas heterogéneas en medios con altas concentraciones de antibiótico (Tomasz *et al.*, 1989; Gil, 2000; Sopena, 2002; Torres, 2002; Rodríguez *et al.*, 2007).

La elevada capacidad de SAMR de generar resistencia a los antimicrobianos se ve

reflejada en la resistencia al grupo MLS<sub>B</sub> (macrólidos, lincosamidas, streptograminas B), la cual presenta dos variables, la resistencia constitutiva (MLS<sub>Bc</sub>) y la inducible (MLS<sub>Bi</sub>) (Schreckenberger *et al.*, 2004): ambas están codificadas por el gen *erm* (erythromycin ribosome methylation) que induce la metilación de la subunidad ribosomal 23S, lo que conlleva a la modificación del sitio de unión de estos antibióticos. La variable constitutiva presenta elevado nivel de resistencia a cualquier antimicrobiano del grupo MLS<sub>B</sub>, a diferencia de la resistencia inducida que presenta únicamente resistencia a los macrólidos de 14 átomos (eritromicina) y 15 átomos (azitromicina) y sensibilidad *in vitro* a macrólidos de 16 átomos, lincosamidas (clindamicina) y estreptograminas B (Fiebelkorn *et al.*, 2003; Steward *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2007).

La resistencia a aminoglucósidos en *S. aureus* viene dada básicamente por 3 mecanismos: 1) mutaciones en la diana ribosómica; 2) alteración de la permeabilidad; y 3) modificación enzimática del antimicrobiano por acetilación, fosforilación o nucleotidilación de grupos amino e hidroxilo. Este último es el mecanismo más importante en *S. aureus* (Torres, 2002; Mella *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2007).

Las quinolonas se han utilizado para tratar infecciones por bacterias Gram positivas, incluyendo a *S. aureus*, observándose resistencia a dichos antimicrobianos, especialmente entre las cepas de SARM. Esta resistencia se explica por mutaciones ocurridas espontáneamente, en primer lugar, en los genes que codifican la expresión de la topoisomerasa IV y luego, la segunda mutación ocurre en los genes *gyrA* y *gyrB*, produciendo la ADN-girasa (topoisomerasa II), esto conlleva a cambios de aminoácidos en regiones críticas de dichas enzimas y, así, alteran su afinidad por el fármaco (Sanders, 2001; Torres, 2002; Taléis *et al.*, 2002; Lowy, 2003).

El mecanismo de resistencia de *S. aureus* a la rifampicina podría depender de la disminución de la afinidad de la ARN polimerasa por el antimicrobiano, debido a una mutación cromosómica mediada por el gen *rpoB* (O'Neill *et al.*, 2000; Sopena, 2002;

Murphy *et al.*, 2006; O'Neill *et al.*, 2006).

La resistencia a tetraciclina es bastante frecuente en *S. aureus* y depende de dos mecanismos principalmente: a) aumento del eflujo activo del fármaco, dependiente de un determinante cromosómico, y b) mecanismos de protección ribosomal (Roberts, 1996; Pérez y Iglesias, 2003; Jara, 2007).

La resistencia a sulfametoxazol por parte de *S. aureus* se puede producir por cambios estructurales en la enzima dihidropteroato-sintetasa, o una producción excesiva de ácido paraaminobenzoico. En cambio, el principal mecanismo de resistencia a trimetoprim es una dihidrofolato reductasa alterada, originaria en un transposón. Por otra parte, la resistencia de *S. aureus* a las sulfamidas es mucho más común que al trimetoprim (Sopena, 2002; Lowy, 2003).

La terapia de elección para el tratamiento de infecciones graves por SAMR es la vancomicina, por lo que su uso en la práctica clínica es cada vez más frecuente (Tibavisco, 2007). En 1997 se informó el primer caso de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a la vancomicina y, en la última década, ya se han registrado casos de cepas resistentes a la vancomicina (Smith *et al.*, 1999; Tenover *et al.*, 2004). La resistencia intermedia a la vancomicina en *S. aureus* se debe a un aumento del grosor de la pared celular, atrapándose más vancomicina en las capas superficiales del peptidoglicano que evita la llegada del fármaco a la membrana citoplasmática. En las cepas resistentes a la vancomicina, el mecanismo que está presente es una sustitución del péptido terminal D-alanina-D-alanina por D-alanina-D-Lactato (Srinivasan *et al.*, 2002; Appelbaum y Bozdogan, 2004; Contreras *et al.*, 2005).

La prevalencia de cepas de SARM con resistencia asociada a vancomicina ha ido incrementándose a nivel mundial con el pasar de los años, intensificando el problema de resistencia en esta bacteria (Torroba *et al.*, 2000). Hasta ahora, en Venezuela no se

han reportado cepas de *S. aureus* resistentes a vancomicina.

Un elemento que diferencia a SARM comunitario (SARM-C) de SAMR hospitalario (SARM-H), es el patrón de sensibilidad a los agentes antimicrobianos. Mientras que una cepa de SARM-H es multirresistente, la correspondiente a SARM-C es sensible a antimicrobianos como trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, vancomicina, clindamicina y, en forma variable, a eritromicina (Hussain *et al.*, 2000).

En España, según el último estudio nacional de prevalencia de la resistencia de *S. aureus* realizado, se determinó que el 72,0% de las cepas de SARM de origen nosocomial eran resistentes a la gentamicina, el 83% a la eritromicina y clindamicina, respectivamente, el 96,0% a ciprofloxacina y el 35,0% a rifampicina. En cambio, sólo el 4,0% eran resistentes al cloranfenicol y cotrimoxazol, mientras que todos eran sensibles a vancomicina y teicoplanina (Sopena y Sanabria, 2002).

En Japón se encontró que el 60,0% de cepas nosocomiales de *S. aureus*, aisladas durante 1992-1993, eran meticilino resistente. En Europa, la prevalencia varía mucho de un país a otro, siendo superior en los países del Sur y en Irlanda. En España, desde 1986 a 1996, la prevalencia de SAMR, de origen hospitalario, aumentó de 1,5% a 17,9%. En Estados Unidos, la proporción SAMR comunicados al Comité Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNI, del inglés: National Nosocomial Infections Surveillance) aumentó del 2,0%, en 1975, a 35,0%, en 1996 (Torroba *et al.*, 2000). En Alemania, para el año de 1997, la prevalencia de SAMR era de 8,0%, y para el 2003 aumentó a 30,0% (Gastmeier *et al.*, 2005).

La Organización Panamericana de la Salud, entre los años 1993 a 1995, estudió el porcentaje de *S. aureus* resistente a diferentes agentes antimicrobianos en Venezuela, encontrando un incremento de la misma ante meticilina, gentamicina, vancomicina, ciprofloxacina y eritromicina. Así mismo, el Instituto de Biomedicina, sección de

Microbiología de la Universidad Central de Venezuela, entre los años de 1994 a 1998, determinaron cepas de *S. aureus* resistentes a la mayoría de los antibióticos probados: penicilina (94,0%), oxacilina (22,0%), clindamicina (19,0%), eritromicina (30,0%), ciprofloxacina (8,0%), rifampicina (39,0%), y gentamicina (10,0%) (Serrano *et al.*, 1998).

Guzmán y Lozada (2007) en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, estado Sucre, Venezuela, realizaron un estudio donde se observó la susceptibilidad a diferentes antibióticos (penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, tetraciclinas, cloranfenicol, vancomicina, ceftriazona) en cepas de *S. aureus* de origen hospitalario y ambulatorio, encontrando resistencia a: penicilina (72,7%), oxacilina (45,5%), eritromicina (27,3%), gentamicina (45,5%), ceftriazona (45,5%) en cepas hospitalarias, y en cepas ambulatorias la resistencia fue: penicilina (41,7%), oxacilina (16,7%), eritromicina (25,0%), tetraciclinas (8,3%), ceftriazona (16,7%).

*S. aureus* juega un papel importante como patógeno causante de infecciones hospitalarias y ambulatorias; en las últimas décadas ha aumentado su prevalencia, donde llama la atención la resistencia que se observa ante los antimicrobianos; motivo por el cual se propuso en la presente investigación determinar la resistencia antimicrobiana de las cepas de *S. aureus* aisladas de individuos, con infecciones intrahospitalarias y ambulatorias, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre.

## METODOLOGÍA

### **Cepas bacterianas**

Durante el periodo comprendido entre junio-diciembre de 2008 se recolectarán 196 cepas de *Staphylococcus* sp., provenientes de 161 pacientes hospitalizados y ambulatorios (consulta de medicina interna, consulta de pediatría, consulta de urología, consulta de ginecología-obstetricia, consulta de traumatología, personal y redes ambulatorias) atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, de la ciudad de Cumaná, estado Sucre; dichos datos se obtuvieron a partir de encuestas llenadas a cada paciente, previo consentimiento (apéndice 1 y 2).

Las cepas recolectadas, identificadas inicialmente como *Staphylococcus* sp., fueron preservadas en agar conservación y, luego llevadas al Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis de la Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, para su análisis correspondiente.

### **Subcultivo de cepas**

Con el objeto de probar la viabilidad y pureza de los aislados, cada uno se colocó en caldo infusión cerebro corazón. Luego, los mismos se sembraron, por medio de la técnica de estría, en medios de cultivo como agar sangre, agar Mac Conkey y agar manitol salado, posteriormente, se observó el crecimiento bacteriano en medios. En cada ocasión, el material se incubó a 37°C, en aerobiosis, por 24 horas (Koneman *et al.*, 2008).

### **Estudio Bacteriológico**

A partir de los crecimientos puros de las cepas bacterianas, en los medios agar sangre, agar manitol salado, se procedió a la observación macroscópicas de las colonias, tomando en cuenta características tales como: aspecto, forma, tamaño,

borde, consistencia, color, elevación, hemólisis, y formación de pigmento. La colonia cuya morfología fue sugestiva de *Staphylococcus* sp. (colonias de 1-3 mm, lisas, elevadas, consistencia mucoide, color crema-dorado, algunas presentan hemólisis), se le realizó un frotis teñido con Gram, con la finalidad de observar morfología bacteriana y afinidad tintorial (Huccker y Coon, 1923). Luego se realizaron las diferentes pruebas bioquímicas, entre las que se incluyeron, catalasa, fermentación de manitol, coagulasa, ADNasa, tomando en cuenta los procedimientos y esquemas de identificación para *Staphylococcus* sp., descritos por Koneman *et al.* (2008).

#### ***Prueba de catalasa***

Para determinar la producción de la enzima catalasa se colocó en un portaobjeto una gota de peróxido de hidrógeno al 3% y se mezcló con una colonia del microorganismo sospechoso tomado del agar sangre, la formación de burbujas se consideró como reacción positiva.

#### ***Fermentación de manitol***

En una placa de petri que contenía agar manitol salado, se inoculó por estría una colonia pesuntiva de *S. aureus*, incubándose de 18-24 horas a 35-37°C, en aerobiosis. Luego se observó si había crecimiento de dicho microorganismo en altas concentraciones de NaCl (7,5%), y la fermentación del manitol, evidenciada por un cambio de color del indicador rojo de fenol a amarillo.

#### ***Prueba de coagulasa en tubo***

Para evaluar la capacidad del microorganismo de transformar el fibrinógeno en fibrina, se colocó una colonia de un cultivo de 18 a 24 horas de incubación en 0,5 ml de caldo nutritivo, a este se le agregaron 4 gotas de plasma con EDTA y se incubó a 35°C, si dentro de las 4 horas de incubación se formaba un coágulo, se consideraba la prueba como positiva para *S. aureus*, sino se esperaba 18 a 24 horas incubando a temperatura ambiente para hacer una nueva lectura.

### ***Prueba de ADNasa***

*S. aureus* produce la enzima ADNasa que hidroliza el ADN. Esta fue detectada sembrando en medio ADN, en forma de mancha densa, al microorganismo identificado presuntivamente como *S. aureus*. Después de 24 horas de incubación a 35°C, se agregó al crecimiento unas gotas de ácido clorhídrico al 1,0%, si al rededor de la colonia se formaba un halo transparente se consideraba la prueba como positiva, si por el contrario se observaba un halo opaco, la prueba se consideraba negativa.

### **Susceptibilidad Antimicrobiana**

Primeramente se realizaron pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, las cuales se determinaron mediante el método de difusión en agar, siguiendo las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios, del ingles: Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2009). Para ello, se preparó un inóculo de cada cepa de *S. aureus* en 4,5 ml de solución salina fisiológica a partir de un crecimiento de 18 a 24 horas, sembrado en agar nutriente, ajustado al patrón 0,5 en la escala de Mac Farland. Una vez obtenido la turbidez correspondiente ( $1,5 \times 10^8$  ufc/ml), se procedió a impregnar un hisopo estéril en la suspensión y se rotó varias veces, ejerciendo presión sobre las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido. Luego se diseminó el hisopo en diferentes direcciones para cubrir toda la superficie del agar Mueller Hinton. Se dejó secar la placa, posteriormente, se procedió a colocar los discos de antimicrobianos: 1 µg de oxacilina (OX), 10 µg de penicilina (P), 10 µg de ampicilina (AM), 30 µg de cefoxitin (FOX), 10/10 µg de ampicilina-sulbactam (SAM), 10 µg de gentamicina (GM), 15 µg de eritromicina (E), 2 µg de clindamicina (CC), 5 µg de rifampicina (RIF), 30 µg de tetraciclina (TE), 5 µg de ciprofloxacina (CIP), 1,25/23,75 µg de trimetoprim-sulfametoxazol (SXT). Todos de la casa comercial Laboratorios Britania S.A. Las placas se incubaron a una temperatura de 35°C, en aerobiosis durante 18 horas, y 24 horas para oxacilina. La lectura de cada halo de inhibición, formado alrededor de disco, se realizó midiendo el diámetro con una regla milimetrada. El mismo se comparó con los puntos de corte

recomendados para *Staphylococcus* sp., establecido por el CLSI (2009), para determinar si el microorganismo es sensible, resistente o de sensibilidad intermedia.

### **Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a vancomicina**

La CIM a la vancomicina (VAN) se efectuó utilizando el método de dilución en agar y fue definida como la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y se interpretó de acuerdo a los criterios del CLSI (2009). El rango de concentración probada fue de 0,5-64 µg/ml de vancomicina.

### **Mecanismos de resistencia**

#### ***Producción de β-lactamasas***

La producción de β-lactamasa en cepas de *S. aureus* fue determinada con la lectura del halo de inhibición de discos de SAM (10/10 µg) comparado, a su vez, con los discos de P (10 µg) y AM (10 µg). Una cepa se consideró productora de β-lactamasa cuando los discos de AM y P tuvieron halos de inhibición que indicaban resistencia, pero el disco de SAM era sensible, según los puntos de corte recomendados por el CLSI (2009).

#### ***Predicción de resistencia a oxacilina mediada por el gen mecA***

Los aislamientos de *S. aureus* que resultaron resistentes a OX en el antibiograma, fueron corroboradas utilizando el disco de FOX (30 µg). Un halo de inhibición igual o mayor a 22 mm se interpretó como sensible, y halo de 21 mm o menor indicó resistencia, probablemente mediada por el gen *mecA* (CLSI, 2009).

#### ***Determinación de resistencia a meticilina en S. aureus (Screening de oxacilina)***

Para confirmar la resistencia del microorganismo a la OX, observada en el antibiograma, se procedió a realizar el tamizaje en placa de agar Mueller-Hinton suplementado con OX (6 µg/ml) y NaCl (4%), según los lineamientos establecidos

por el CLSI (2009). La incubación se realizó en aerobiosis a 35°C por 24 horas. Cualquier crecimiento en el lugar del inóculo, al cabo de ese tiempo, se consideró resistente.

### ***Determinación de la PBP2a***

Para la detección de la PBP2a se empleó la prueba comercial Penicillin – Binding Protein (PBP2') Latex Agglutination Test (Oxoid), de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Este método se basó en la aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales contra PBP2' (Chapin y Musgnug, 2004 ). Para la extracción de la PBP2a se añadieron 4 gotas del reactivo de extracción 1, en un tubo de microcentrífuga, luego con una asa estéril, se agregaron de 5-10 colonias y se mezcló hasta disolver. Para ello, se necesitó una siembra proveniente de una placa de agar sangre de 24 horas de incubación, con crecimiento suficiente y colonias bien aisladas. Posteriormente, se colocó el tubo preparado en agua hirviendo, durante tres minutos, para luego sacarlo y dejarlo a temperatura ambiente. Posterior a ello, se añadió una gota del reactivo de extracción 2 y se mezcló. Luego se procedió a centrifugar a 1.500 g durante 5 minutos, y se utilizó el sobrenadante. Seguidamente, en una placa de reacción, se colocó en un primer pocillo una gota del látex reactivo y en otro pocillo una gota del látex control, para luego agregarle 50 µl del sobrenadante, con ayuda de palillos se homogeneizaron las mezclas de cada pocillo, durante 3 minutos y se observó. Se consideró prueba positiva cuando hubo aglutinación en el pocillo del látex reactivo y no en el látex control.

### ***Determinación del fenotipo MLS<sub>B</sub> en S. aureus***

Con el propósito de determinar el fenotipo inducible de resistencia a CC, se utilizó la prueba del doble disco o D-test, donde se colocaron próximos (15 mm) los discos de E (15 µg) y CC (2 µg), como parte del método de difusión en agar. Luego de 18-24 horas de incubación, se observó si hubo presencia de un achatamiento del halo de inhibición de CC, adyacente al disco de E (llamada zona “D”), esto se

consideró como fenotipo  $MLS_B$  inducible. Las cepas que no presentaron achatamiento del halo de inhibición de CC, se informaron como D-test negativo; y aquellas con halos de E y CC cerrados, se consideraron negativas (resistencia constitutiva).

### **Control de Calidad**

El control de calidad de los discos en el antibiograma se realizó utilizando una cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y una cepa de *S. aureus* meticilino resistente 77908, facilitada por el INHRR (Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel). Esta última cepa fue utilizada como control positivo para el screening con OX y la detección de la PBP2a. Para el control del disco de SAM se empleó la cepa *E. coli* ATCC 25922 ( $\beta$ -lactamasa negativa) y la cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 ( $\beta$ -lactamasa positiva).

### **Análisis Estadístico**

Se realizó el análisis descriptivo de los resultados obtenidos, los cuales fueron representados en tablas y figuras (Jiménez, 2000).

## RESULTADOS

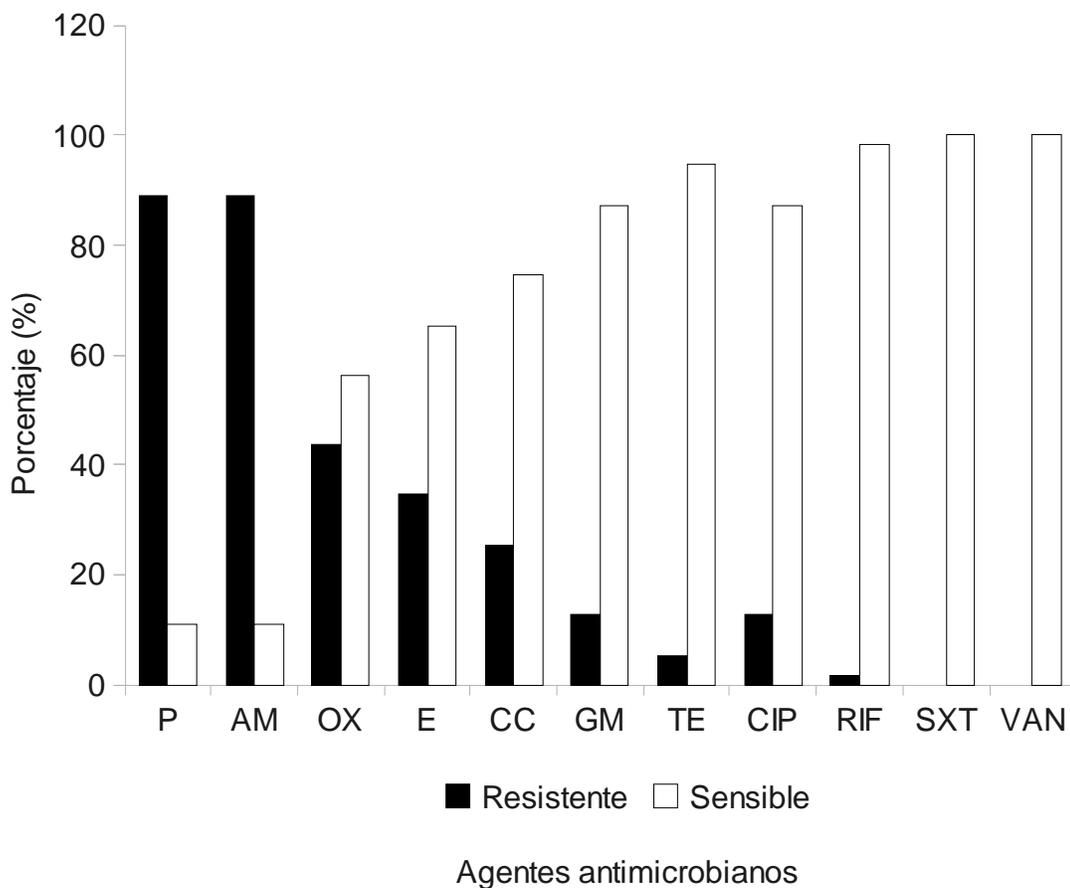
De las 196 cepas de *Staphylococcus* sp. identificadas, 83 (42,3%) correspondieron a *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) y 113 (57,7%) a *S. aureus*, de éstas, 55 (48,7%) pertenecieron a pacientes hospitalizados y 58 (51,3%) a pacientes ambulatorios. El número de pacientes con infección por *S. aureus* fue de 94; 40 estaban hospitalizados y 54 eran ambulatorios. Porcentajes similares de infecciones monomicrobianas se obtuvieron de pacientes hospitalizados (89,1%) y ambulatorios (89,7%).

Los servicios de donde se aislaron cepas de *S. aureus* provenientes de pacientes hospitalizados fueron: retén (9,7%), medicina (8,8%), pediatría (8,0%), diálisis (7,1%), cirugía (7,1%), unidad de cuidados intensivos (6,2%) y post-parto (1,8%). En el caso de las cepas de *S. aureus* de origen ambulatorio, estas se obtuvieron de los servicios de: consulta de pediatría (16,8%), consulta de medicina interna (15,0%), personal (7,1%), consulta de ginecología-obstetricia (5,3%), consulta de urología (2,7%), redes ambulatorias (2,7%) y consulta de traumatología (1,7%).

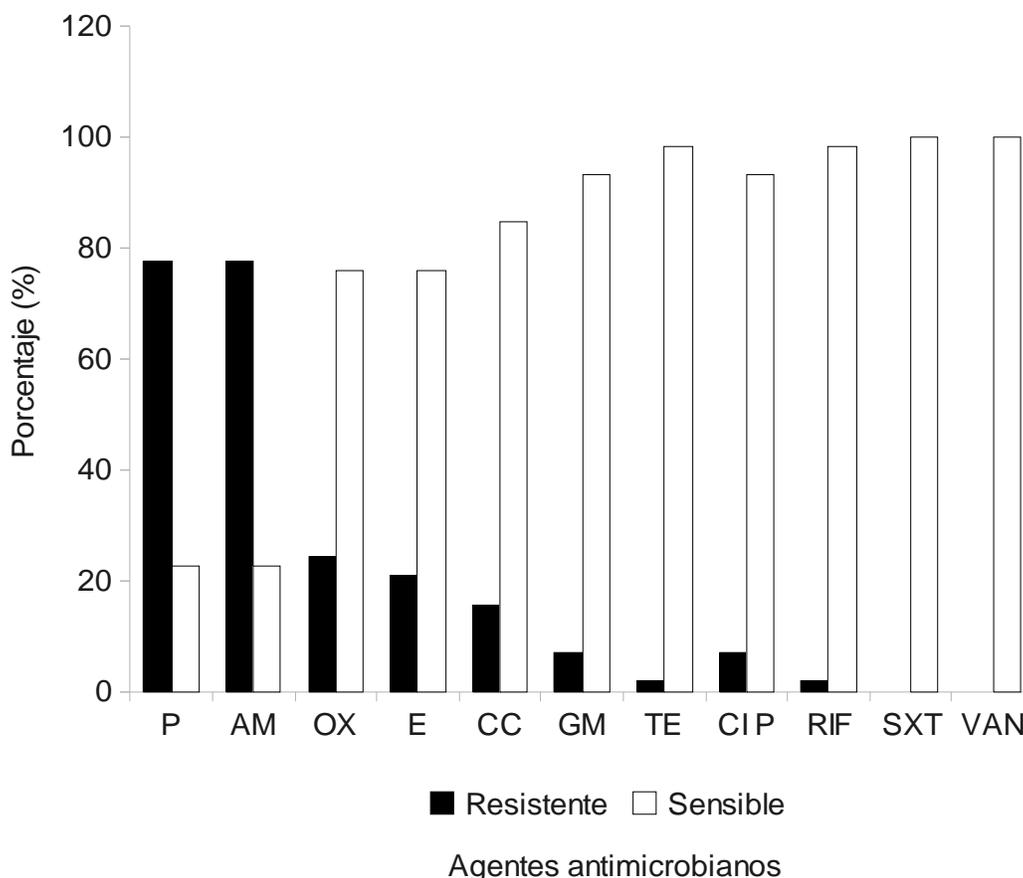
Los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana en las cepas de *S. aureus* de origen hospitalario, se muestra en la figura 1. Se encontró resistencia a la P en el 89,1% de los aislados y se pudo evidenciar que el 43,6% de dichas cepas fueron resistentes a este antibiótico por la producción de  $\beta$ -lactamasa. En relación a la OX, se encontró una resistencia de 43,6%, en cuanto a E y CC, la resistencia fue de 34,6% y 25,4%, respectivamente. Se encontraron similares porcentajes de cepas resistentes (12,7%) a GM y CIP; la resistencia a TE fue de 5,4% y 1,8% para RIF. El antibiótico SXT fue activo en todas las cepas que se aislaron de pacientes hospitalizados.

En la figura 2 se muestra la actividad de los diferentes antibióticos ensayados

en las cepas ambulatorias, donde la resistencia obtenida a P fue de 77,6%, y de éste, un 51,7% resultó resistente por la producción de  $\beta$ -lactamasa. La resistencia a OX fue de 24,1%. En cuanto a E, la resistencia estuvo representada por 22,4%; el porcentaje de resistencia a CC también fue bajo (15,5%), seguido de GM y CIP con 6,9% para cada uno, y antibióticos como TE y RIF con 1,7% de resistencia, respectivamente. Al igual que en cepas de procedencia hospitalaria, SXT mostró actividad ante todas las cepas ambulatorias.



**Figura 1.** Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. P: penicilina; AM: ampicilina; OX: oxacilina; E: eritromicina; CC: clindamicina; GM: gentamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; RIF: rifampicina; SXT: trimetoprim-sulfametoxazol; VAN: vancomicina.



**Figura 2.** Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes ambulatorios que fueron atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008. P: penicilina; AM: ampicilina; OX: oxacilina; E: eritromicina; CC: clindamicina; GM: gentamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; RIF: rifampicina; SXT: trimetoprim-sulfametoxazol; VAN: vancomicina.

La determinación de la CIM de la VAN en las cepas hospitalarias y ambulatorias estudiadas reveló que dichas cepas se inhibieron a concentraciones menores o iguales a 1,0 µg/ml.

De las cepas de SARM aisladas de los pacientes hospitalizados, se determinó que el 58,3% presentó resistencia homogénea y un 41,7% resistencia heterogénea, en cuanto a cepas de SARM procedentes de pacientes ambulatorios, 35,7% y 64,3% correspondieron a

resistencia homogénea y heterogénea, respectivamente (tabla 2, apéndice 3).

De las 24 cepas de *S. aureus* de origen hospitalario que resultaron resistentes a OX en el antibiograma, solo 2 de ellas no crecieron en screening, ni presentaron la PBP2a. En el caso de las 14 cepas ambulatorias que fueron resistentes al disco de OX, 13 cepas crecieron en el screening, sin embargo, para la PBP2a, todas las cepas resultaron positivas (tabla 1, apéndice 4).

**Tabla 1.** Resultados del método de screening con oxacilina y la detección de la proteína ligadora de penicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008.

Origen	Cepas resistentes al disco de oxacilina N° (%)	Screening*		PBP2a	
		(+)	(-)	(+)	(-)
Hospitalarias	24 (43,6)	22	2	22	2
Ambulatorias	14 (24,1)	13	1	14	0

\*6 µg/ml de oxacilina y 4% de NaCl; N°: número de cepas; (+): positivo; (-): negativo.

**Tabla 2.** Distribución porcentual del tipo de resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilino resistentes, de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008.

Cepas SAMR	Tipos de resistencia		
	Homogénea N° (%)	Heterogénea N° (%)	Total N° (%)
Hospitalarias	14 (58,3)	10 (41,7%)	24 (100)
Ambulatorias	5 (35,7)	9 (64,3)	14 (100)

SAMR: *Staphylococcus aureus* metilino resistente.

En la tabla 3 se muestra la distribución de los fenotipos de resistencia al grupo

MLS<sub>B</sub>, allí se puede observar que los fenotipos MLS<sub>B</sub> inducible (14,6%) y MLS<sub>B</sub> constitutivo (10,9%) estuvieron presentes en mayor porcentaje en cepas de origen hospitalario (apéndice 5).

**Tabla 3.** Distribución porcentual del fenotipo de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B en cepas de *Staphylococcus aureus*, de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008.

Cepas	MLS <sub>B</sub> inducible N°(%)	MLS <sub>B</sub> negativo N°(%)	MLS <sub>B</sub> Constitutivo N°(%)	Total* N°(%)
Hospitalarias	8 (14,6)	5 (9,1)	6 (10,9)	19 (34,6)
Ambulatorias	7 (12,1)	4 (6,9)	2 (3,4)	13 (22,4)

N°: Número de cepas; \*Resistencia a Eritromicina.

En la tabla 4 se muestran los diferentes antibiótipos de resistencia encontrados en cepas de procedencia ambulatoria y hospitalaria, los cuales fueron designados con números romanos de manera arbitraria. En cepas hospitalarias, los antibiótipos más frecuentes fueron el II (34,5%), III (12,7%), seguidos del I, IV y VIII (10,9%). En el caso de las cepas de origen ambulatorio, se encontraron los siguientes antibiótipos: II (36,2%), I (20,7%) y III (10,3%). Es importante destacar que los antibiótipos XIII, XIV, XV y XVI se obtuvieron de las cepas ambulatorias; sin embargo, el antibiótipo XI se observó en cepas hospitalarias.

Del total de cepas de *S. aureus* estudiadas, se determinaron 15 (27,3%) cepas multirresistentes aisladas de pacientes hospitalizados y 6 (10,3%) provenientes de pacientes ambulatorios, las cuales se encontraron en los antibiótipos IV, VI, VIII, XIV. De estos, los antibiótipos IV, VI y VIII estuvieron presentes en cepas de procedencia tanto hospitalaria como ambulatoria, sin embargo, el antibiótipo XIV se encontró solo en cepas ambulatorias (tabla 4).

**Tabla 4.** Antibiótipos de cepas de *Staphylococcus aureus*, de origen hospitalario y ambulatorio, aisladas en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008.

Antibiótipos	Antibióticos											Cepas hospitalarias		Cepas ambulatorias	
	P	AM	OX	FOX	SAM	GM	E	CC	RIF	TE	CIP	N°	(%)	N°	(%)
I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	6	10,9	12	20,7
II	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	19	34,5	21	36,2
III	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	7	12,7	6	10,3
IV*	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	6	10,9	3	5,2
V	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	2	3,6	1	1,7
VI*	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	3	5,5	1	1,7
VII	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	1	1,8	1	1,7
VIII*	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	6	10,9	1	1,7
IX	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	1	1,8	2	3,4
X	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	1	1,8	1	1,7
XI	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	1	3,6	-	-
XII	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	2	3,6	4	6,9
XIII	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	-	-	2	3,4
XIV*	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	-	-	1	1,7
XV	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	-	-	1	1,7
XVI	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	-	-	1	1,7
<b>Total</b>												<b>55</b>	<b>100,0</b>	<b>58</b>	<b>100,0</b>

N°: Número de cepas; \*: cepas multirresistentes; S: sensible; R: resistente; P: penicilina; AM: ampicilina; OX: oxacilina; FOX: cefoxitin; E: eritromicina; CC: clindamicina; GM: gentamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; RIF: rifampicina.

En los pacientes hospitalizados, tratados con betalactámicos, se encontraron ocho (8) antibiótipos, de los cuales, siete (7) se correspondieron con cepas resistentes a dichos agentes antimicrobianos. En el caso de los pacientes ambulatorios que recibían tratamiento con la misma familia de antibióticos, se encontraron nueve (9) antibiótipos, de estos, ocho (8) presentaron cepas resistentes a los mismos (tabla 5 y 6).

**Tabla 5.** Distribución de los antibiótipos expresados por las cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de los pacientes recluidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008, según el tratamiento antimicrobiano aplicado.

<b>Pacientes</b>		
<b>Antibioticoterapia previa</b>	<b>Nº** (%)</b>	<b>Antibiótipos (Nº)</b>
Betalactámicos	11 (27,5)	I (3), II (5), IV* (1), V(2), VI* (2), VIII* (1)
Glicopéptidos	1 (2,5)	IV* (4)
Betalactámicos-aminoglucósidos	7 (17,5)	I (1), II (3), III (1), VII (1), VIII* (2)
Glicopéptidos-aminoglucósidos	2 (5,0)	II (1), IV* (1), VI* (1)
Betalactámicos-Glicopéptidos	1 (2,5)	III (2)
Betalactámicos-quinolonas	3 (7,5)	I (1), VIII* (3)
Betalactámicos-lincosamidas	1 (2,5)	II (1)
Aminoglucósidos-lincosamidas	1 (2,5)	IX (1)
Sin tratamiento	13 (32,5)	I (1), II (9), III (4), X(1), XI (1), XII (2)
<b>Total</b>	<b>40 (100,0)</b>	

Nº: Número de cepas; Nº \*\*: Número de pacientes; \*cepas multirresistentes.

**Tabla 6.** Distribución de los antibiótipos expresados por las cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes ambulatorios atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008, según el tratamiento antimicrobiano aplicado.

Antibioticoterapia previa	Pacientes	
	N°** (%)	Antibiótipos (N°)
Betalactámicos	22 (40,7)	I (3), II (12), III (4), IV* (1), VII (1), IX (1), XIII (1)
Quinolonas	3 (5,6)	I (1), II (1), XIII (1), XVI (1)
Aminoglucósidos	1 (1,8)	III (2)
Glicopéptidos	1 (1,8)	II (1)
Betalactámicos-quinolonas	1 (1,8)	I (1)
Betalactámicos-aminoglucósidos	3 (5,6)	VI* (1), VIII* (1), XIV* (1)
Betalactámicos-glicopéptidos	1 (1,8)	XII (1)
Betalactámicos-lincosamidas	3 (5,6)	I (1), IV* (2)
Glicopéptidos-aminoglucósidos	1 (1,8)	I (1)
Glicopéptidos-quinolonas	1 (1,8)	II (1)
Lincosamidas-quinolonas	1 (1,8)	XII (1)
Sin tratamiento	16 (29,6)	I (3), II (8), V (1), IX (1), X (1), XII (2), XV (1)
<b>Total</b>	<b>54 (100,0)</b>	

N°: Número de cepas; N° \*\*: Número de pacientes; \*cepas multirresistentes.

El 70,4% y 67,5% de los pacientes hospitalizados y ambulatorios, respectivamente, recibían antibióticos para el momento de la toma de muestra. Los

betalactámicos fueron los antibióticos mayormente empleados como tratamiento antimicrobiano tanto en pacientes hospitalizados como en ambulatorias. Con respecto a los pacientes hospitalizados y ambulatorios no tratados con antimicrobianos, estos presentaron variedad de antibiótipos, sin embargo el antibiótipo II estuvo presente en mayor número, no se aislaron cepas multirresistentes (tabla 5 y 6).

## DISCUSIÓN

A pesar de la introducción de nuevos agentes antimicrobianos y de las mejoras en las medidas higiénicas, las cuales han sido fundamentales para reducir la morbilidad y mortalidad por infecciones estafilocócicas, estos microorganismos han persistido como patógeno importante, tanto en los ambientes hospitalarios como comunitarios (Wolfgang *et al.*, 1998).

De acuerdo a los resultados hallados en el presente estudio, *S. aureus* se aisló del 51,3% de los pacientes ambulatorios y del 48,7% de los pacientes hospitalizados. Similares porcentajes de aislamiento fueron obtenidos por lozada (2004), en un estudio realizado en pacientes atendidos en servicio médico de cirugía y emergencia del HUAPA.

Los servicios médicos retén (9,7%), medicina (8,8%) y pediatría (8,0%) fueron los que albergaron mayor porcentaje de pacientes afectados por *S. aureus*. En el Hospital Universitario de los Andes, Mérida, Velázco *et al.* (2002), obtuvieron porcentajes similares de aislamiento en unidad de alto riesgo neonatal. Asimismo, Martínez *et al.* (2001), en México, observaron un predominio de microorganismos Gram positivos, donde *S. aureus* ocupó el primer lugar de aislamiento, como agente causal de infección intrahospitalaria en las áreas de neonatología y pediatría. Los neonatos, en particular los prematuros, son pacientes inmunosuprimidos que constituyen una población de alto riesgo para la adquisición de infección intrahospitalaria, en la cual están involucrados una gran variedad de microorganismos, entre ellos, *S. aureus* (Beck-Sague y Miller; 2002 Vergano *et al.*, 2005).

En cuanto al aislamiento de *S. aureus* de pacientes atendidos en los servicios

médicos de diálisis (7,1%), cirugía (7,1%) y unidad de cuidados intensivos (6,2%), los mismos resultaron inferiores a los reportados por otros investigadores (Velásquez *et al.*, 2002; Peñafiel *et al.*, 2003).

La mayoría de los pacientes hospitalizados reciben uno o más agentes antimicrobianos, su uso y, en ocasiones, abuso ha traído como consecuencia la aparición de gérmenes resistentes con el consiguiente fracaso de los tratamientos y el aumento exagerado en los costos de hospitalización. En el momento de elegir un antibiótico se debe tomar en cuenta varios factores, tales como, naturaleza de la infección, farmacocinética y farmacodinámica de la droga y el tipo de microorganismo; además es muy importante conocer los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos en cada institución de salud (Comegna *et al.*, 2000).

En el presente estudio se encontró un elevado porcentaje de cepas de *S. aureus* resistentes a P, tanto en aislados de pacientes hospitalizados (89,1%) como de ambulatorios (77,6%), dichos resultados difieren de los reportados por Lozada, en el año 2004, quien realizó un estudio en cepas de *S. aureus* aisladas del HUAPA, en pacientes hospitalizados y ambulatorios, reportando el 100% de resistencia a P. Este hecho podría deberse al uso racional que posiblemente se le ha venido dando ha las penicilinas en este centro hospitalario, en los últimos años, como respuesta a los elevados porcentajes de resistencia que se venían observando. Al respecto, datos publicados por Guzmán y Lozada (2007), muestran que el 72,7% de las cepas de origen hospitalario y 41,7% de las cepas ambulatorias fueron resistentes a dicho agente antimicrobiano.

Está descrito que la resistencia a P en cepas de *S. aureus* viene dada principalmente por la producción de  $\beta$ -lactamasas (Céspedes, 1998; Olen *et al.*, 2006). Según los resultados obtenidos en el presente estudio, la producción de estas enzimas se detectó en el 43,6% y 51,7% para cepas de *S. aureus* de origen

hospitalario y ambulatorio, respectivamente. Por su parte, Castellano *et al.* (2005), en Maracaibo, reportaron 84,9% de cepas de *S. aureus* hospitalarias productoras de  $\beta$ -lactamasas, utilizando para ello el método de nitrocefina y complementaron con el método de difusión en agar, donde compararon los halos de los discos de amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) y SAM con respecto al disco de penicilina. Asimismo, Guzmán y Lozada (2007) reportaron que todas las cepas hospitalarias y ambulatorias resistentes a P, estuvieron mediadas por la producción de  $\beta$ -lactamasas. En los cocos Gram positivos, la producción de dichas enzimas suele ser detectada por el método de nitrocefina (Castellano *et al.*, 2005; Guzmán y Lozada, 2007). Sin embargo, no fue objeto en este estudio utilizar dicha prueba, sino que se aplicó la técnica recomendada por el CLSI (2009) para la detección de  $\beta$ -lactamasas, la cual consiste en la utilización de antibióticos betalactámicos combinados con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas comparado con el disco de P.

La resistencia a la OX por parte de las cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes hospitalizados fue de 43,6%, mientras que en pacientes ambulatorios se encontró un 24,1%. Al comparar la resistencia a la OX en ambos grupos de estudio, se observó que el mayor número de casos se obtuvo en las cepas de origen hospitalario. Estos resultados son similares a los reportados por Guzmán y Lozada (2007), quienes señalan un 45,5% de resistencia a la OX en cepas hospitalarias, pero con un porcentaje menor en cepas de origen ambulatorio (16,7%). Al respecto, Jones *et al.* (2002) realizaron un estudio, en Estados Unidos, donde aislaron cepas de *S. aureus* resistentes a OX, a partir de paciente hospitalizados (45,7%), mientras que en cepas de origen ambulatorio el porcentaje de aislamiento para dichas bacterias fue menor (28,6%). En Chile, Otth *et al.* (2008), también recuperaron cepas de *S. aureus* resistentes a OX de origen hospitalario en un 33,0%, y 28,0% de resistencia en la parte ambulatoria.

El aumento de cepas de SARM en los hospitales se describe desde que la

meticilina u OX fue empleada como antibiótico de elección en el tratamiento contra *S. aureus* (Velázquez, 2005; Kanafani y Fowler, 2006). Según Said-Salim *et al.* (2003), la presencia de SARM era restringido inicialmente al ambiente hospitalario, pero ha extendido sus dominios con el surgimiento de dichas cepas en la comunidad, involucradas en infecciones con elevada tasa de mortalidad, principalmente en piel, tejidos blandos, neumonías necrotizantes y septicemias.

Cabe resaltar que se obtuvieron dos cepas hospitalarias resistentes a P, OX, y sensible a SAM, por el método de difusión en agar, con screening y PBP2a negativo, demostrando un fenotipo correspondiente a cepas hiperproductoras de  $\beta$ -lactamasa, por lo que, para efectos de resultados en este estudio, dichas cepas se clasificaron como posibles portadoras de ese mecanismo de resistencia (BORSA). Castellano *et al.*, en el 2005, descartó la presencia de cepas BORSA, como posible causa de resistencia a OX. Sin embargo, tres (3) años más tarde, se reportaron dos cepas de *S. aureus* resistentes a OX, con PBP2a negativo (Castellano *et al.*, 2008).

En las cepas de SAMR se observaron, según el método de difusión en agar, los dos tipos de resistencia descritas para estafilococos (homogénea y heterogénea), caso especial merece las cepas de origen hospitalario, donde el porcentaje de cepas con resistencia homogénea fue mayor (58,3%) en comparación con las cepas heteroresistentes (41,7%). Dichos resultados difieren de los reportados en la ciudad de la Paz, Bolivia, por Adamczyk *et al.* (2005), en cepas de SAMR de origen hospitalario, donde encontraron que en todas las cepas identificadas como *S. aureus* se observó resistencia heterogénea, coincidiendo estos investigadores con otros estudios publicados, donde indican más del 99,9% de las cepas aisladas de casos hospitalarios poseen una resistencia heterogénea (Chambers, 1997; Lowy, 1998; Matthews y Stewart, 1998). Algunos investigadores afirman una cierta dificultad para la detección de la resistencia a la OX, especialmente en la expresión de la heteroresistencia del gen *mecA* (Chambers, 1997; Krediet *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*,

2003). Estas divergencias han conducido a cambios en la técnica, modificándose parámetros como pH, temperatura, concentración de NaCl, tiempo de incubación, entre otros, llegando a la conclusión que resultados óptimos se obtienen a pH neutro, temperatura entre 30-35°C, osmolaridad elevada con 2-4% de NaCl, incubación hasta 48 horas, inóculo denso y presencia de antibióticos betaláctamicos, para así incrementar e inducir la expresión *in vitro* de dicha resistencia (Peterson *et al.*, 1993; Cavassini *et al.*, 1999; Gil, 2000; Sopena, 2002; Rodríguez *et al.*, 2007).

La resistencia a E (34,6%) y CC (25,4%) fue superior en cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes hospitalizados con respecto a los aislados obtenidos de pacientes ambulatorio. Igualmente, la resistencia inducible a CC se observó mayormente en aislados de cepas hospitalarias. Estos hallazgos son inferiores a los reportados en Chile, por Montoya *et al.* (2009), quienes mostraron 43,8% de resistencia MLS<sub>B</sub> inducible en cepas de pacientes hospitalizados. Por otro lado, Fernández *et al.* (2004), en un estudio realizado a pacientes en un centro ambulatorio privado de Caracas, encontraron que solo el 4,1% de las cepas de *S. aureus* mostraron el fenotipo de resistencia MLS<sub>B</sub> inducible, mientras que el fenotipo MLS<sub>B</sub> constitutivo se observó en un mayor porcentaje (14,9%).

Según Schreckenberger *et al.* (2004), la CC constituye una alternativa terapéutica, sobre todo en infecciones de piel y tejidos blandos causadas por *S. aureus*, especialmente, en pacientes con hipersensibilidad a la P, sin embargo, la presencia de cepas con resistencia MLS<sub>B</sub> inducible origina un serio problema que se ha incrementando en los últimos años. Las cepas con este tipo de resistencia aparentan sensibilidad *in vitro* a CC, pero, al ser utilizado clínicamente, ocurre *in vivo* la inducción de la resistencia con el consiguiente fracaso terapéutico. Esto se explica porque E es un potente inductor de la resistencia a CC y estreptograminas de grupo B, cuando está presente el gen *erm* en la célula bacteriana, mientras que CC, al ser un inductor débil, provoca que a largo plazo (durante el tratamiento) se induzca

resistencia a sí misma. Es por ello que, para predecir resistencia del tipo  $MLS_B$  se utiliza E, acompañada de CC en el antibiograma (Steward *et al.*, 2005).

Para la GM, el mayor porcentaje de resistencia se encontró en cepas de origen hospitalario (12,7%) y un menor porcentaje en cepas ambulatorias (6,9%), este antimicrobiano es muy utilizado en el tratamiento de infecciones hospitalarias y de la comunidad. El uso de GM ejerce una presión selectiva sobre las cepas bacterianas resistentes, y esto alerta sobre la posibilidad de un cambio de perfil de resistencia antimicrobiana, no solo en cepas aisladas del ambiente hospitalario, sino también en aislamientos de la comunidad (Nabón, 2006). Estos resultados son similares a los reportados por Castellano *et al.* (2005), en Maracaibo, Zulia. Por su parte, en Argentina, Paganini *et al.* (2009) reportaron cepas de *S. aureus* resistentes a este agente antimicrobiano provenientes de niños hospitalizados (22,0%) y niños de la comunidad (7,0%). La resistencia a GM se debe principalmente a una modificación cromosómica en los genes que codifican para la enzima AAC(6')-APH(2''), también confiere resistencia a tobramicina (TM), amikacina (AK), kanamicina (K) y netilmicina (Nt). La acción bifuncional de esta enzima inactiva a los aminoglucósidos, favoreciendo la biosíntesis de proteínas en *S. aureus* (Rodríguez *et al.*, 2007). La resistencia observada en cepas de *S. aureus* a GM, en el antibiograma, no predice resistencia a otros aminoglucósidos.

En relación a CIP, en este estudio se encontró resistencia de 12,7% y 6,9% para cepas hospitalarias y ambulatorias, respectivamente. Estos resultados son inferiores a los mencionados por Céspedes *et al.* (2002), quienes reportaron 25,7% de resistencia a este agente antimicrobiano. Dichos resultados difieren de los reportados por Guzmán y Lozada (2007), quienes no obtuvieron resistencia a CIP en ambos grupos de estudio. La resistencia a esta quinolona se produce por mutaciones cromosómicas espontáneas en el sitio blanco del antibiótico, como lo es la ADN girasa o por inducción de bombas de eflujo (Taléis *et al.*, 2002; Lowy, 2003 ).

La resistencia a TE fue de 5,4% y 1,7% para cepas hospitalarias y ambulatorias, respectivamente. Estos resultados son diferentes a los encontrados por Guzmán y Lozada (2007), quienes reportaron 100,0% de sensibilidad a TE en cepas hospitalarias y 8,3% de resistencia en cepas ambulatorias. Se a descrito que la resistencia se debe al eflujo activo del fármaco, a través de proteínas codificadas por los genes *tetK* y *tetL*, asociados a plásmidos y, en menor medida, a mecanismos de protección ribosomal mediada por los genes *tetM* y *tetO*. Estos genes son los más ampliamente distribuidos en bacterias Gram positivas (Pérez y Iglesias, 2003; Jara, 2007 ). También se encontró bajo porcentaje de cepas resistentes a RIF en cepas de *S. aureus* de origen hospitalario (1,8%) y en cepas ambulatorias (1,7%). Por su parte, Castellano *et al.* (2005) reportaron el 100% de efectividad de este antibiótico en cepas hospitalarias. Por el contrario, Paganini *et al.* (2009) encontraron 7,0% de resistencia a RIF en cepas hospitalarias y 1,0% en cepas ambulatorias. Estos porcentajes de resistencia se han encontrado asociados a una disminución de la afinidad del antimicrobiano por la subunidad  $\beta$  de la ARN polimerasa, debido a una mutación cromosómica (O'Neill *et al.*, 2000).

En el presente estudio, SXT mostró actividad ante todas las cepas estudiadas. Otros investigadores han reportado resultados similares a los aquí encontrados (Prego *et al.*, 2004; Castellano *et al.*, 2005; Londono *et al.*, 2006).

Debido a la creciente resistencia observada en las cepas de estafilococos hacia la meticilina, a principio de los años 90 se introdujo la VAN de manera global, como único antibiótico efectivo contra SAMR. Sin embargo, ya para 1997, en Japón, se encontró la primera cepa con resistencia intermedia a la VAN (VISA), y en el 2002 se reportó la primera cepa resistente a este antibiótico en Estados Unidos, llamadas cepas VRSA (Hiramatsu *et al.*, 1997; CDC, 2002; Srinivasan *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005). Todas la cepas de *S. aureus* de origen hospitalario y ambulatorio, probadas en este estudio, fueron inhibidas a concentraciones menores o iguales a 1  $\mu\text{g/ml}$  de VAN,

lo cual indica que se mantiene la efectividad de dicho agente antimicrobiano en cepas de *S. aureus* aisladas en el HUAPA. El hecho de que en Venezuela no se haya reportado hasta los momentos cepas de *S. aureus* con resistencia a este agente antimicrobiano, indica que sigue siendo el tratamiento de elección en cepas de SARM. Por el contrario, Otth *et al.* (2008), en Chile, obtuvieron CIM de VAN de 8  $\mu\text{g/ml}$  en el 2% de cepas de pacientes hospitalizados, la cual es preocupante, ya que su existencia no sólo constituye un riesgo para el paciente, sino además una seria amenaza para la salud pública, desde el punto de vista epidemiológico.

Según Peterson y Miorner (1995), Gil (2000) y Lowy (2003), las cepas de SARM se caracterizan por su multirresistencia, lo cual compromete a todos los  $\beta$ -lactámicos y a otros antimicrobianos como tetraciclina, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos, quinolonas, dejando virtualmente a los glicopéptidos y oxazolidinonas como únicas opciones terapéuticas.

Del presente estudio se aislaron cepas multirresistentes de pacientes hospitalizados tratados con betalactámicos, glicopéptidos, o la combinación de uno de estos con quinolona o aminoglucósidos. En el caso de los pacientes ambulatorios, las cepas multirresistentes se observaron en aquellos que recibieron betalactámicos o la combinación de estos con aminoglucósidos y lincosamidas.

Los betalactámicos resultaron ser la familia de antibióticos empleada como primera línea de tratamiento antimicrobiano contra las infecciones que afectan, tanto a los pacientes hospitalizados en el HUAPA como los ambulatorios. Asimismo, investigadores como Marín y Gudiol (2003), Suárez y Gudiol (2009) coinciden en que los betalactámicos constituyen la familia de antibióticos más ampliamente utilizada en la práctica clínica.

El consumo de antimicrobianos y, principalmente, de betalactámicos podría

estar influyendo en la resistencia de cepas de *S. aureus* provenientes de pacientes hospitalizados y ambulatorios, con lo cual se estaría poniendo en evidencia la presión selectiva ejercida por los antibióticos sobre la población bacteriana (Cabrera *et al.*, 2007; Celis *et al.*, 2009). Con respecto a las cepas de *S. aureus*, aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios no tratados con antimicrobianos, previo a la toma de muestra, los patrones de resistencia fueron diversos, siendo el antibiótico II el más frecuente, además, de estos pacientes no se aislaron cepas multirresistentes.

De acuerdo al comportamiento de las cepas aquí estudiadas, se destaca la importancia de analizar los resultados obtenidos en el antibiograma en pro de la búsqueda de los posibles mecanismos de resistencia presentes en cada cepa, la cual favorecería la orientación médica en cuanto al tratamiento antimicrobiano adecuado a aplicar en cada paciente y, a su vez, en los distintos servicios médicos, a manera de evitar la selección y diseminación de cepas resistentes.

Finalmente, de los resultados obtenidos en el presente estudio se desprende que el mayor porcentaje de cepas resistentes se sigue aislando de pacientes hospitalizados, sin embargo, es preocupante la existencia de cepas con fenotipos de multirresistencia ocasionando infecciones en pacientes no hospitalizados. Por esta razón, urge la necesidad de fomentar actividades dirigidas a difundir información sobre el uso adecuado de los agentes antimicrobianos.

## CONCLUSIONES

El aislamiento de *S. aureus* predominó en los pacientes ambulatorios, pero las cepas de SARM prevalecieron en los pacientes hospitalizados.

El fenotipo MLS<sub>B</sub> inducible se detectó tanto en cepas aisladas de pacientes hospitalizados como en las ambulatorias.

La vancomicina y trimetoprim-sulfametoxazol fueron activos en todos los aislados, en ambos grupos estudiados.

Los betalactámicos fueron los más utilizados como terapia antimicrobiana en ambos grupos de estudio.

## RECOMENDACIONES

Crear programas de concientización del personal médico y de la comunidad en general sobre el uso indiscriminado de antimicrobianos, a manera de evitar la selección de cepas multirresistentes.

Continuar el estudio a fin de determinar la producción de  $\beta$ -lactamasa por el método de la nitrocefina y mediante pruebas moleculares.

También se recomienda inducir la expresión del gen *mecA*, utilizando screening con 4% NaCl y 6  $\mu\text{g/ml}$  de oxacilina, a temperatura de 30-35°C, en un máximo de 48 horas, para la detección de la resistencia heterogénea.

## BIBLIOGRAFÍA

Adamczyk, L.; Trigos, C.; Vásquez, A. y Duran, L. 2005. Determinación de la homoresistencia y heteroresistencia de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente aislado de muestras de pacientes internados en los hospitales boliviano holandés, Hospital Obrero y Hospital de Clínica. *Cuaderno del Hospital de Clínica*, 50(2): 7-11.

Appelbaum, P. y Bozdogan, B. 2004. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Laboratory Medical*, 24: 381-402.

Beck-Sague, C. y Miller, E. 2002. A point well taken. *Journal of Pediatrics*, 140: 391-393.

Cabrera, C.; Gómez, R. y Zúnida, A. 2007. La resistencias de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38(2): 149-158.

Camarena, J. y Sánchez, R. 2000. "Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina". "Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y microbiología Clínica". <[http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/pdf/sarm.pdf](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/sarm.pdf)>. (31/01/2008).

Castellano, M.; Bermúdez, E.; Perozo, A.; Camacho, L.; Harrias, B. y Ginestre, M. 2005. *Staphylococcus aureus*: estado de portadores en personas de enfermería y patrones de susceptibilidad antimicrobiana. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(2): 72-78.

Castellano, M.; Perozo, M.; Armindo, J. y Vivas, R. 2008. Detección fenotípica y molecular de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*, 36(1): 28-38.

Cavassini, M.; Wenger, A.; Jatón, K.; Blanc, D. y Bille, J. 1999. Evaluation of MRSA-Screen, a simple anti-PBP2a slide test agglutination kit, for rapid detection of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 1591-1594.

Celis, Y.; Pulido, I.; Velenzuela, E.; Regueno, M. y Mantilla, J. 2009. Antibióticos: ¿balas mágicas que ya no dan en el blanco? *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1): 4-6.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002. *Staphylococcus*

*aureus* resistant to vancomycin-united states 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 51(26): 565-567.

Céspedes, A. 1998. Actualidades y perspectiva de la farmacología de drogas antibacterianas. *Revista Cubana Medica Militar*, 27(2): 85-93.

Céspedes, Ch.; Miller, M.; Quagliarello, B.; Vavagiakis, P.; Klein, R. y Lowy, F. 2002. Differences between *S. aureus* isolates from medical and nonmedical hospital personnel. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 2594-2597.

Contreras, G.; Gómez, C.; Leal, A.; González, M. y Navarrete, M. 2005. *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina: una nueva amenaza. *Infection*, 9: 91-99.

Chambers, H.; Archer, G. y Matsushashi, M. 1989. Lower-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 424-428.

Chambers, H. 1997. Methicillin resistance in *Staphylococci*: molecular and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4): 781-791.

Chapin, K. y Musgnug, M. 2004. Evaluation of penicillin binding protein 2a latex agglutination assay for identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 42: 1283-1284.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement. M100-19. Vol.29. N° 3.

Comegna, M.; Guzmán, M.; Carmona, O.; Molina, M. y Grupo Colaboradores del Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana. 2000. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela. Nuevos hallazgos. *Boletín Sociedad Venezolana de Microbiología*, 20(1): 58-62.

Fernández, S.; Cárdenas, M. y Elster, C. 2004. Incidencia de resistencia constitutiva e inducible a clindamicina en *Staphylococcus* spp. Aislados en un centro ambulatorio. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35: 10-13.

Ferreira, R.; Iorio, N.; Nuñez, A.; Fonceca, L.; Bastos, C. y Santos, K. 2003. Coagulase negative *Staphylococci*: comparison of phenotypic and genotypic oxacillin susceptibility test and evaluation of the agar screening test by using different concentration of oxacillin. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(8): 3609-3614.

Fiebelkorn, K.; Crawford, S.; McElmeel, M. y Jorgensen, J. 2003. Practical disk diffusion methods for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10): 4740-4744.

García, J. y Fresnadillo, M. 2000. Nuevos antibióticos activos frente a Grampositivos. *Revista Española de Quimioterapia*, 13: 13-16.

Gastmeier, P.; Sohr, D.; Geffers, C.; Behnke, M.; Daschner, F. y Rüden, H. 2005. Mayor mortalidad en las infecciones por cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SARM). *Infection*, 33: 50-55.

Gil, M. 2000. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Revista Chilena de Infectología*, 17: 145-152.

Girón, G.; Ramos, G.; Fernández, G. y Pérez, C. 2002. Infección nosocomial. *Medicina*, 8: 3867-3874.

Guzmán, M y Lozada, R. 2007. Detección de *Staphylococcus aureus* meticinilo-resistentes aislados de pacientes con infección nosocomial y adquirida en la comunidad. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 27: 45-49.

Hiramatsu, K.; Hanaki, H.; Ino, T.; Yabuta, K.; Oguri, T. y Tenover, F. 1997. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40: 135-136.

Hucker, G. y Coon, A. 1923. Methods of Gram Staining. *Technical Bulletin New York State Agriculture Experimentation*, 93(5): 1-37.

Hussain, F.; Boyle-Vavra, S.; Baethel, C. y Daum, R. 2000. Current trends in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary care pediatric facility. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 19: 1163-1166.

Jara, M. 2007. Tetraciclina: un modelo de resistencia antimicrobiana. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 22: 49-55.

Jerraud, S.; Peyrat, M.; Lim, A.; Tristan, A.; Bes, M.; Mougél, C.; Etienne, J.; Vandenesch, F.; Bonneville, M. y Lina, G. 2001. Egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*, 166: 669-677.

Jiménez, J. 2000. *Bioestadística. Métodos descriptivos*. Universidad de los Andes. Facultad de Medicina. Mérida. Venezuela.

Jones, M.; Mayfield, D.; Thornsberry, C.; karlowsky, J.; Sahm, D. y Peterson, D. 2002. Prevalence of oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* among inpatients and outpatients in the united states during 2000. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **46**: 3104-3105.

Kanafani, Z. y Fowler, V. 2006. *Staphylococcus aureus* infections: new challenger from an old pathogen. *Disease Infectious and Microbiology Clinical*, **24**: 182-93.

Kloos, W. y Bannerman, T. 1995. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. *Manual of Clinica Microbiology*, **6**(1): 282-298.

Koneman, E.; Stephen B.; Willian, M.; Schreckenberger P. y Winn, W. 2008. *Diagnóstico Microbiológico*. Quinta edición. Editorial médica panamericana. Buenos Aires. Argentina.

Krediet, T; Jones, M.; Janssen, K.; Gerards, L. y Flier, A. 2001. Prevalence of molecular types and *mecA* gene carriage of coagulase negative *Staphylococci* in a neonatal intensive care unit: relation to nosocomial septicemia. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**(9): 3376-3378.

Lee, S.; Kuti, J. y Nicolau, D. 2005. Antimicrobial management of complicated skin and skin structure infections in the era of emerging resistance. *Surgical Infections*, **6**: 283-295.

Londono, J.; Ortiz, G. y García, A. 2006. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la clínica universitaria bolivariana, Medellín 2004. *Infectologia*, **10**(3): 160-166.

Lowy, F. 1998. *Staphylococcus aureus* infectious. *New England Journal of medicine*, **334**: 520-532.

Lowy, F. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investication*, **14**: 206-211.

Lozada, R. 2004. Detección de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina en infecciones nosocomiales y comunitarias. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de oriente, Cumaná.

Marín, M. y Gudiol, F. 2003. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, **21**(1): 42-55.

Martínez, G.; Anaya, M. y Figueroa, C. 2001. Incidencia de bacteriemia y

neumonía nosocomial en una unidad de pediatría. *Salud pública de México*, 43(6): 515-523.

Matthews, P. y Stewart, P. 1998. Resistance heterogeneity in methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. *The Federation of European Materials Societies Microbiol Llett*, 22: 161-166.

Mella, S.; Sepúlveda, M.; González, G.; Bellot, H.; Domínguez M.; Zemelman, R. y Ramírez, C. 2004. Aminoglucósidos-aminociclitoles: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Revista Chilena de Infectología*, 21(4): 330-338.

Monday, S. y Bohach, G. 1999. Properties of *Staphylococcus aureus* enterotoxins and toxins shock syndrome toxin-1. *Londres: Academic Press*, 589-610.

Montoya, I.; Mira, M.; Álvarez, I.; Cofré, J.; Cohen, J.; Donoso, G. y Torres, J. 2009. Resistencia inducible a la clindamicina en *Staphylococcus aureus* neticilino resistente. *Revista Chilena de Pediatría*, 8(1): 48-53.

Murphy, C.; Mullin, S.; Osburne, M.; Duzer, J.; Siedlecki, J.; Yu, X.; Kerstein, K.; Cynamon, M. y Rothstein, D. 2006. In vitro activity of novel rifamycins against rifamycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(3): 827-834.

Nabón, A. 2006. *Staphylococcus aureus* resistentes a betalactamicos en infecciones determinadas en la comunidad. *Salud Militar*, 28(1): 26-33.

Naimi, T.; Sabetti, K.; Borchardt, S.; Boxrud, D.; Etienne, J.; Johnson, S.; Vandenesch, F.; Boyle, C.; Danila, R. y Lynfield, R. 2003. Comparison of community and health care-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of the American Medical Association*, 290: 2976-2984.

Olen, J.; Christensen, H. y Aerestrup, F. 2006. Diversity and evolution of *blaZ* from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 450-460.

O'Neill, A.; Brunello, O.; Storey, C.; Hoyle, A.; Fishwick, C. y Chopra, I. 2000. ARN polymerase inhibitors with activity against rifampicin-resistant mutants of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(11): 3163-3166.

O'Neill, A.; Huovinen, T.; Fishwick, C. y Chopra, I. 2006. Molecular genetic and structural modeling studies of *Staphylococcus aureus* RNA polymerase and the fitness of rifampin resistance genotypes in relation to clinical prevalence.

*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(1): 298-309.

Orwin, P.; Leung, D.; Donahue, H.; Novick, R. y Schlievert, P. 2001. Biochemical and biological properties of *staphylococcal* enterotoxin K. *Infection and Immunity*, 69: 360-366.

Oth, L.; Wilson, M.; Bustamante, N.; Fernández, H. y Oth, C. 2008. Susceptibilidad antimicrobiana y patrones de resistencia de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes y portadores en la ciudad de Valdivia, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 25(3): 175-178.

Paganini, H.; Della, M.; Mulle, B.; Ezcurra, G.; Uranga, M.; Aguirre, C.; Ensínck, G.; Kamiya, M.; Miranda, M.; Ciriaci, C.; Hernández C.; Casimir, L.; Rial, M.; Schenonne, N.; Ronchi, E.; Rodríguez, M.; Aprile, F.; Ricco, C.; Saito, V.; Vrátnica, C.; Pons, L.; Ernst, A.; Morinigo, S.; Toffoli, M.; Bosque, C.; Monzani, V.; Mónaco, A.; Pinheiro, J.; López, M.; Maninno, L. y Sarkis, C. 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. *Revista Chilena de Infectología*, 26(5): 406-412.

Peñañiel, F.; Solar, A.; Gollerino, A.; Gontupil, G. y Fuenzalida, A. 2003. Neumonía adquirida en la comunidad en el anciano inmunocompetente que requiere hospitalización. Cuadro clínico, factores pronósticos y tratamiento. *Archivos de Bronconeumonía*, 39: 333-340.

Pérez, E y Iglesias, I. 2003. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Diseases Infectious and Microbiology Clinical*, 21(9): 520-529.

Peterson, A. y Miorner, H. 1995. Species-specific identificación of methicillin resistance in *Staphylococci*. *The European Journal of Clinical Microbiology Disease*, 14: 206-11.

Peterson, L.; Petzel, R.; Clabots, C.; Fasching, C. y Gerding, D. 1993. Medical technologist using molecular epidemiology as part of the infection control team. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 16: 303-11.

Prego, J., Galiana, A.; Pujadas, M.; Almada, K.; Boulay, M.; Carugati, M.; Castro.; Delfino, M.; Ferreiro, B.; Gandaro, P.; Ihitz, A.; Lustemberg, A.; Mas, M.; Telechea, D.; Paiva, R. 2004. Infecciones de piel y partes blandas en pacientes ambulatorios. *Archivo Pediatrico de Uruguay*, 75(4): 300-306.

Projan, S. y Novick, R. 1997. The molecular basis of pathogenicity. En: *The Staphylococci in human disease*. Crossiey, K. B. and Archer, G. L. (editores).

Churchill Livingstone, Nueva York. Págs. 55-81.

Roberts, M. 1996. Tetracycline resistant determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility and distribution. *The Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 19: 1-24.

Rodríguez, J.; Cisneros, J.; Moreno, I.; Salas, J. y Pascual, A. 2007. “Documento de consenso sobre el manejo clínico de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en adultos”. “Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas”. <[http://Saei.org/hemero/consensos/samr\\_archivos/SARM.pdf](http://Saei.org/hemero/consensos/samr_archivos/SARM.pdf)>. (02/11/2009).

Said-Salim, B.; Mathema, B. y Kreiswirth, B. 2003. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 24: 451-455.

Sanders, C. 2001. Mechanisms responsible for cross resistance and dichotomous resistance among quinolones. *Clinica Infectious Disease*, 3: 1-8.

Sattler, C.; Mason, E. y Kaplan, S. 2002. Prospective comparison of risk factors and demographic and clinical characteristics of community-acquired, methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infection in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 21: 910-917.

Schreckenberger, P.; Llendo, E. y Ristow, K. 2004. Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative Staphylococci in a community and a tertiary care hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6): 2777-2779.

Serrano, N.; Carvajal, Z.; Zalabarría, C.; García, E. y Urrestarazu, M. 1998. Resistencia a los antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* aislados de lesiones de piel y tejidos blandos. Trabajo de Investigación. Instituto de Biomedicina Sección de Microbiología Universidad Central de Venezuela.

Smith, T.; Pearson, M.; Wilcox, K.; Cruz, C.; Lancaster, M.; Robinson, B.; Tenover, F.; Zervos, M.; Band, J.; White, E. y Jarvis, W. 1999. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The New England Journal of Medicine*, 340: 492-501.

Sopena, N. 2002. “Evolución de un brote epidémico por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina”. “Tesis y monografías”. <[http://www.Tdr.cesca.es/TESIS\\_UAB/AVAILABLE/TDX\\_0205102\\_111605/nsg1de1.pdf](http://www.Tdr.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX_0205102_111605/nsg1de1.pdf)>. (12/01/2009).

Sopena, N. y Sanabria, M. 2002. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Medicina Clínica*, 118(17): 671-676.

Srinivasan, A.; Dick, J. y Perl, T. 2002. Vancomycin resistance in *Staphylococci*. *Clinical Microbiology Reviews*, 15: 430-438.

Steward, C.; Raney, P.; Morrell, A.; Williams, P.; McDougal, L.; Jevitt, L.; McGowan, k. y Tenover, F. 2005. Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4): 1716-1721.

Suárez, C. y Gudiol, F. 2009. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(2): 116-129.

Taléis, V.; Garrigues, T. y Cantón, E. 2002. Mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas. *Revista Española de Quimioterapia*, 15(1): 25-31.

Tenover, F.; Weigel, L.; Appelbaum, P.; McDougal, L.; Chaitram, J.; McAllister, S.; Clark, N.; Killgore, G.; Ohara, C.; Levitt, L.; Patel, J. y Bozdogan, B. 2004. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother*, 48: 275-80.

Tibavisco, D.; Rodríguez, J.; Silva, E.; Cuervo, S. y Cortés, J. 2007. Enfoque terapéutico de la bacteremia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica*, 27(2): 294-307.

Tomasz, A.; Drugeon, H. y Lencastre H. 1989. New mechanism for methicillin-resistant in *S. aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 1869-1874.

Torres, C. 2002. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(7): 354-364.

Torroba, L.; Rivero, M.; Oterming, I.; Irving, A.; Marivi-Porra, E. y García, I. 2000. Resistencia antimicrobiana y política de antibióticos MRSA, GISA y VRE. *Anales del Sistema Sanitario Navarra*, 5(3): 42-45.

Velázco, E.; Nieves, N.; Araque, M. y Calderas, Z. 2002. Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. *Diseases Infectious and Microbiology Clinical*, 20(7): 321-325

Velásquez, J.; Lizaraso, F.; Wong, W.; Alfonso, C.; Veliz, J.; Salazar, J.; Larrea, H.; Gamarra, J. y Smaquispe, R. 2002. Vigilancia de la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la oxacilina-vancomicina y patrones de coresistencia. *Revista Peruana de la*

*Sociedad de Medicina Interna*, 15(4): 184-189.

Velásquez, M. 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. *Salud Pública de México*, 47: 381-387.

Vergano, S.; Sharland, M.; Kazembe, P.; Mawansambo, P. y Health, P. 2005. Neonatal sepsis: an international perspective. *Archives of Disease in Childhood Fetal Neonatal*, 90: 220-224.

Weber, T. 2005. Community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Disease*, 41: 5269-5272.

Wolfgang, K.; Joklik, N.; Willett, P.; Amos, B. y Wilfort, M. 1998. *Microbiología*. Vigésima edición. Editorial panamericana. Buenos Aires. Argentina.

Yamaguchi, T.; Nishifuji, K.; Sasaki, M.; Fudaba, Y.; Aepfelbacher, M.; Takata, T.; Ohara, M.; Komatsuzawa, M.; Amagai, M. y Sugai, M. 2002. Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infection and Immunity*, 10: 5835-584

## **APÉNDICE**

## Apéndice 1.

### Consentimiento Válido

Bajo la coordinación de la Doctora Elsa Salazar, profesora de la Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, se está realizando en proyecto de investigación intitulado: EPIDEMIOLOGÍA DE *Staphylococcus* sp., AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE.

El objetivo de este trabajo de investigación es: Analizar la situación epidemiológica de cepas bacterianas, aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios del hospital “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre.

Yo: \_\_\_\_\_  
C.I: \_\_\_\_\_ Nacionalidad: \_\_\_\_\_  
Estado Civil: \_\_\_\_\_ Domiciliado en: \_\_\_\_\_

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio médico declaro me4diante la presente:

1. Haber sido informado (a)de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigación de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación intitulado: EPIDEMIOLOGÍA DE *Staphylococcus* sp., AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: Analizar la situación epidemiológica de *Staphylococcus* sp., aisladas de

pacientes hospitalizados y ambulatorios del hospital “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre.

3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en:

Donar de manera voluntaria la muestra de acuerdo al tipo de infección; la cual sera obtenida por el personal médico especializado y autorizado:

4. Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para obtener aislados bacterianos.
5. Que el equipo de personas que realiza esta investigación me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra investigación relacionada a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación a este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de la investigación con quienes me puedo comunicar por el teléfono: 04147999750, con la Br. Leidy Gámez.
9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los Hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación.

**APÉNDICE Nº 2**

**EPIDEMIOLOGÍA DE *Staphylococcus* sp., AISLADOS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y  
AMBULATORIOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ", CUMANÁ,  
ESTADO SUCRE.**

Ficha de registro del paciente

Código de Encuesta			
Fecha			

**0. IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE**

0.1.	Historia Clínica	
0.2.	Nombre y Apellidos	Edad Sexo
0.3.	Fecha de Nacimiento	
0.4.	Lugar de nacimiento	
0.5.	Dirección de habitación	

**1. DATOS DE PACIENTES AMBULATORIOS**

1.1.	Diagnóstico clínico			
1.2.	Infección	Tipo de infección	Otros	
1.3.	Recibe terapia antimicrobiana	Si	No	Cual antibiótico

**2. DATOS DE HOSPITALIZACIÓN**

2.1.	Fecha de ingreso			Servicio
2.2.	Día de hospitalización			Servicio
2.3.	Diagnóstico clínico de ingreso			
2.4.	Infección	Tipo de infección	Otros	
2.5.	Recibe terapia antimicrobiana	Si	No	Cual antibiótico

**3. EN CASO DE SER NEONATOS**

3.1.	Infecciones durante el embarazo	Si	No	Cual
3.2.	Parto vía vaginal	Si	No	
3.3.	Via atormal (cesárea)	Si	No	Cualquier
3.4.	Peso al nacer			
3.5.	Intubación endotraqueal	Si	No	
3.6.	Concentración	Tipo		
3.7.	Presenta prematuridad al recién nacido	Si	No	

#### 4. FACTORES SUBYACENTES

4.1.	¿Sufre de Hipertensión arterial?	Si	No
4.1.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.2.	¿Sufre de Diabetes?	Si	No
4.2.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.3.	¿Ha sufrido Cáncer?	Si	No
4.3.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.4.	¿Ha sufrido de Enfermedades Renales?	Si	No
4.4.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.5.	¿Ha sufrido Enfermedades Infecciosas?	Si	No
4.5.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido, especifique tipo de antibiótico:		
4.6.	¿Ha sufrido de Parálisis?	Si	No
4.6.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.7.	¿Ha presentado cuadro de Desnutrición?	Si	No
4.7.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue diagnosticada y cual fue el tratamiento recibido:		
4.8.	¿Ha presentado estado de Coma?	Si	No
4.8.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando fue el estado y cual fue el tratamiento recibido:		
4.9.	¿Ha recibido tratamiento con Corticosteroides?	Si	No
4.9.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuanto tiempo fue el tratamiento recibido:		
4.10.	¿Ha estado sometido a Radiaciones?	Si	No
4.10.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuanto tiempo fueron recibidas:		
4.11.	¿Ha sufrido alguna otra enfermedad?	Si	No
4.11.1	si la respuesta es afirmativa, indique que otros enfermedades:		

#### 5. FACTORES PREDISPONENTES

5.1.	¿Es fumador (a)?	Si	No
5.1.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuantos cigarrillos fuma diariamente:		

5.2	¿Es consumidor (a) de café?	Si	No
5.2.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuantas tazas de café toma diariamente:		

5.3	¿Es consumidor (a) de alguna droga?	Si	No
5.3.1	si la respuesta es afirmativa, indique que droga y con que frecuencia la consume:		

<b>6. SOLO PARA PACIENTES</b>
-------------------------------

6.1	¿Ha estado cateterizado?	Si	No
6.1.1	si la respuesta es afirmativa, indique de que tipo:		

6.2	¿Ha presentado ventilación mecánica?	Si	No
6.2.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:		

6.3	¿Ha estado sometido a procedimientos quirúrgicos?	Si	No
6.3.1	si la respuesta es afirmativa, indique de que tipo:		

6.4	¿Ha estado expuesto a quimioterapia?	Si	No
6.4.1	si la respuesta es afirmativa, indique que tipo:		

6.5	¿Ha presentado sondas nasogástricas?	Si	No
6.5.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:		

6.6	¿Ha presentado tubo de sonda?	Si	No
6.6.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:		

6.7	¿Ha estado dializado?	Si	No
6.7.1	si la respuesta es afirmativa, indique el tiempo:		

6.8	¿Ha tenido transfusiones?	Si	No
6.8.1	si la respuesta es afirmativa, indique cuando y cuantas veces:		

6.9	Otros:	Si	No
6.9.1	si la respuesta es afirmativa, indique cual:		

<b>7. SEGÚN PATOLOGÍA, TIPO DE MUESTRA A</b>
--

Tratamiento	Hisopado de Herida	Hisopado Rectal	Heces	LCR
Orina	Sudor	Urina		
Sitio de infección				

8. EXAMENES

EXAMENES DE LABORATORIO

8.1.	Hematólogicos	
8.1.1	Hb (g/dl)	
8.1.2	Hto (%)	
8.1.3	VW (mm <sup>3</sup> )	
8.1.4	EN (%)	
8.1.5	Unf (%)	

8.2.	Uroanalisis	
8.2.1	Olor	
8.2.2	Color	
8.2.3	Aspecto	
8.2.4	pH	
8.2.5	Nitritos	

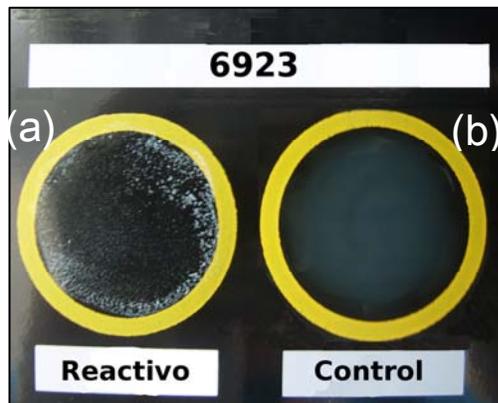
8.3.	Sedimento urinario	
8.3.1	Leucocitos	
8.3.2	Eritrocitos	
8.3.3	Pielos	
8.3.4	Bacterias	
8.3.5	Crista	

8.4.	Diagnostico microbiológico	
8.4.1.	Cuanti macroscópico	
8.4.2	Sucrose (±) urolitiasis(±)	
	1	
	2	
	3	

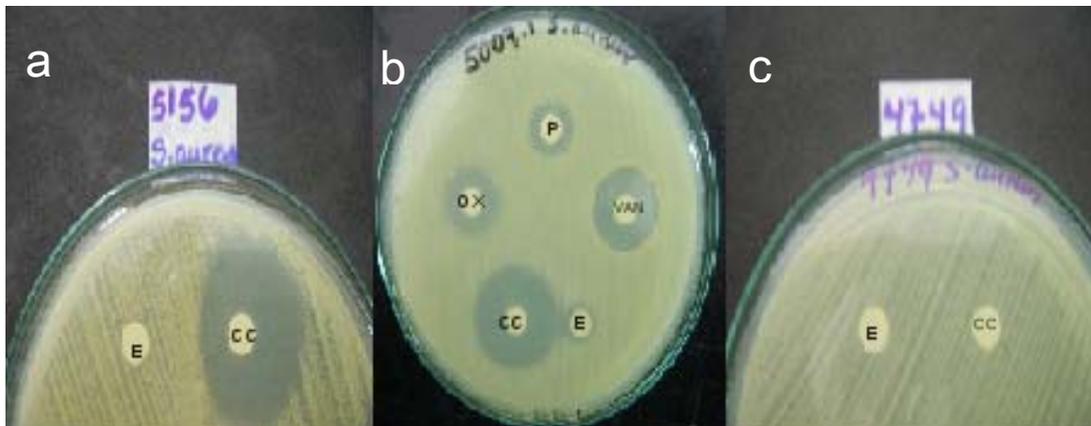
ANTIBIOGRAMA											
	S	R	I		S	R	I		S	R	I
Penicilina				Eritromicina				Sulfisoxazol			
Ampicilina				Cloxacilina / Dicloxacilina				Trimetoprim/Sulfametoxazol			
Carbenicilina				Kanamicina				Colistina			
Ticarcilina				Gentamicina				Acido nalidixico			
Piperacilina				Tobramicina				Nitrofurantoina			
Cloxacilina				Amikacina				Norfloxacina			
Cefalotina				Dibekacina				Cinoxacin			
Cefazolina				Sisonidina				Ciprofloxacina			
Cefamandol				Nalidixina				Ampicilina / Sulbactam			
Cefotaxim				Tetraciclina				Cefuroxima			
Ceftiozona				Cloranfenicol				Imipenem			
Cefoperazona				Vancomicina				Ceftazidima			
Ceftazidima				Colimicina				Ceftriaxona			



**Apéndice 3.** Expresión de la resistencia a la oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus*. (a) Resistencia heterogénea y (b) Resistencia homogénea. OX: oxacilina; FOX: Cefoxitina.



**Apéndice 4.** Detección de la PBP2a en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina. (a) reactivo-positivo; (b) control-negativo.



**Apéndice 5.** Fenotipos de resistencia al grupo MLS<sub>B</sub> en cepas de *Staphylococcus aureus*. (a) MLS<sub>B</sub> inducible, (b) MLS<sub>B</sub> negativo y (c) MLS<sub>B</sub> constitutivo. P: penicilina; OX: oxacilina; VAN: vancomicina; E: eritromicina; CC: clindamicina.

## **HOJA DE METADATOS**

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	resistencia antimicrobiana en cepas de Staphylococcus aureus aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios del hospital Universitario “antonio patricio de alcalá”, de la ciudad de Cumaná, estado sucre
<b>Subtítulo</b>	

### Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Gámez Leidy Yecenia</b>	CVLA C	16961969
	e-mail	gjgamez2@gmail.com
	e-mail	
	CVLA C	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLA C	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLA C	
	e-mail	
	e-mail	

### Palabras o frases claves:

Staphylococcus aureus
Infección hospitalaria y ambulatoria
Resistencia antimicrobiana
Staphylococcus aureus meticilino resistente
Fenotipos de resistencia

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Microbiología	Bacteriología

### Resumen (abstract):

Con el propósito de analizar los fenotipos de resistencia de las cepas de Hospital se *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, durante el periodo julio-diciembre de 2008, estudiaron 196 aislados identificados previamente como *Staphylococcus sp.*, estas fueron corroboradas mediante pruebas bioquímicas convencionales; la susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante la prueba de difusión en agar, en el caso de vancomicina se determinó la concentración inhibitoria mínima. Se identificaron 83 cepas como *Staphylococcus coagulasa* negativo y 113 cepas como *Staphylococcus aureus*, de estas últimas, 55 se aislaron de pacientes hospitalizados y 58 de pacientes ambulatorios. La resistencia presentada por *S. aureus* a la penicilina fue de 89,1% para cepas de procedencia hospitalaria y un 77,6% para cepas ambulatorias, resultando productoras de  $\beta$ -lactamasas el 43,1% y 51,7% de las cepas, respectivamente. El 43,6% (24) de las cepas de *S. aureus* aisladas de los pacientes hospitalizados fueron oxacilina resistentes por el método de difusión en agar, de estas, 22 resultaron productoras de PBP2a y 2 posibles BORSA. En cuanto a las cepas ambulatorias, 24,1% (14) fueron oxacilina resistentes por el método de difusión en agar y presencia de PBP2a. La resistencia a eritromicina y clindamicina en cepas hospitalarias fue de 34,6% y 25,4%, mientras que en las de origen ambulatorio se obtuvo un 22,4% y 15%, respectivamente. La resistencia inducible a clindamicina fue similar en ambos grupos de estudio. Los agentes antimicrobianos como vancomicina y trimetoprim-sultametoxazol fueron activos en todas las cepas estudiadas. El antibiótipo II (Pr, AMr, OXs, SAMs, GMs, Es, CCs, RIFs, TEs, CIPs) fue el más frecuente, tanto en las cepas obtenidas de pacientes hospitalizados (36,2%) como en las ambulatorias (34,5%). El 70,4% de los pacientes hospitalizados y 67,5% de los pacientes ambulatorios recibían antibioticoterapia previa a la toma de muestra, resultando los betalactámicos los mayormente empleados como tratamiento en ambos grupos.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Salazar, Elsa	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U
	CVLAC	
	e-mail	elsazul2003@yahoo.com
	e-mail	
Guzmán, Militza	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	miltzaguz@yahoo.com
	e-mail	
Morillo, Maribel	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

**Fecha de discusión y aprobación:**

Año	Mes	Día
2010	11	30

**Lenguaje:** spa

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

### Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_TYG.doc	Application/ Word.doc

### Alcance:

Espacial: Universal

Temporal: Intemporal

**Título o Grado asociado con el trabajo:** Licenciado en Bioanálisis

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Licenciatura

**Área de Estudio:** Bioanálisis

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:**

Universidad de Oriente

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

### **Derechos:**

El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, el contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.

---

---

---

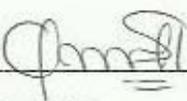
---

---

  
\_\_\_\_\_  
**Autor**  
**Gámez Leidy Yecenia**

  
\_\_\_\_\_  
**Asesora**  
**Salazar, Elsa**

  
\_\_\_\_\_  
**Jurado**  
**Guzmán, Militza**

  
\_\_\_\_\_  
**Jurado**  
**Morillo, Maribel**

**POR LA COMISIÓN DE TESIS:**

  
\_\_\_\_\_  
