

HOSPITAL INTERMUNICIPAL DOCENTE
"MÁRTIRES DEL 9 DE ABRIL"
SAGUA LA GRANDE, VILLA CLARA

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA EN EL HOSPITAL
GENERAL DE SAGUA LA GRANDE: OBSERVACIONES BACTERIOLÓGICAS.

Por:

Dra. Ivette Isabel Sánchez Rodríguez¹, Lic. Yulexys Delmés López² y Lic. Maday de la Caridad Tur Sánchez²

1. Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital Intermunicipal Docente "Mártires del 9 de Abril". Sagua La Grande. Villa Clara. Instructora. Filial "Lidia Doce Sánchez". ISCM-VC.
2. Licenciada en Microbiología. Laboratorio de Bacteriología. Hospital Intermunicipal Docente "Mártires del 9 de Abril". Sagua La Grande. Villa Clara.

Resumen

Introducción: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina es un patógeno importante nosocomial y en la comunidad, por lo que su detección en el laboratorio e informe, constituye un aspecto relevante en el tratamiento de las infecciones que causa. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. **Diseño:** Estudio básico, longitudinal prospectivo realizado en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Intermunicipal Docente de Sagua La Grande, que analizó los cultivos de pacientes ingresados y ambulatorios positivos a *S. aureus* en la búsqueda de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. **Métodos:** 602 aislamientos obtenidos de esta especie, a partir de muestras clínicas de orina, secreciones purulentas, sangre, conjuntivales y óticas, a los que se les realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión con disco de oxacilina 1µg; los diámetros obtenidos fueron medidos en milímetros luego de su incubación. Para realizar la prueba e interpretar los resultados se aplicaron las recomendaciones del NCCLS de 2001. **Resultados:** La frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina fue 18,93 % y la relación ingresados/ambulatorios, de 50,92 %/7,06 %. Entre los pacientes ingresados, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina fue más resistente a eritromicina y fosfocina. No se encontró resistencia a la vancomicina. En cultivos sanguíneos predominó *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. **Conclusiones:** El papel del laboratorio y las pruebas de susceptibilidad en la ayuda a los médicos de asistencia acerca de la toma de decisiones sobre el tratamiento antibiótico, puede ampliarse con la aplicación y comunicación de los hallazgos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, sobre la base de la incorporación de estos métodos a la labor sistemática del laboratorio.

Descriptores DeCS:
RESISTENCIA A LA METICILINA
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Subject headings:
METHICILLIN RESISTANCE
STAPHYLOCOCCUS

Introducción

Por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SAMR) se describen aquellas cepas de *Staphylococcus aureus* que demuestran resistencia “*in vitro*” a las penicilinas resistentes a las penicilinasas (PRP_s), que incluyen: meticilina, nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina y flucoxacilina^{1,2}.

S. aureus es resistente a meticilina mediante varios tipos de mecanismos; uno de ellos es la resistencia llamada clásica o intrínseca, que no está mediada por beta lactamasas. Su origen es cromosómico, y el gen *mec* es el responsable de la presencia de una proteína fijadora de penicilinasas (PBP_s) alterada en la superficie de la bacteria PBP2, lo que ocasiona disminución de la afinidad por el antibiótico. Este primer mecanismo, a su vez, se expresa en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de dos formas: la primera es cuando la población consiste básicamente en células resistentes y la expresión de la resistencia es inmediatamente evidente “*in vitro*”; pero en el otro caso, la existencia de una población heterogénea donde una minoría es de células resistentes (fenotipo heterorresistente), es más difícil de descubrir, debido fundamentalmente a que esta subpoblación crece más lento, a temperatura de 35°C y menos, en medios suplementados o estabilizados. En otros aislamientos de SAMR, que son menos comunes que los anteriores, el mecanismo obedece a la producción de cantidades elevadas de beta lactamasas, y se denomina resistencia adquirida. Se supone que una alta concentración de estas enzimas pueden, con el tiempo, romper el anillo beta lactámico protegido de PRP_s. “*In vitro*” expresan valores de concentración mínima inhibitoria (CIM) o zonas de inhibición consideradas “límites”, que cambian hasta valores evidentemente susceptibles, cuando se enfrentan en el laboratorio con inhibidores de beta lactamasas solos o combinados con compuestos beta lactámicos¹⁻³.

Un tercer tipo de resistencia en SAMR obedece a la síntesis de PBP1, 2, 4 alteradas, y se expresa en otro tipo de resistencia “límite”, pero que a diferencia de los hiperproductores de beta lactamasas, no disminuye por el uso de los inhibidores de estas enzimas¹⁻³.

Los aislados “límites” son clínicamente diferentes de aquellos que tienen el gen *mec*. Para propósitos del informe, cualquier aislamiento resistente a oxacilina por poseer el gen, se considera resistente a todo el grupo y también al resto de los agentes beta lactámicos, incluso penicilinas, cefalosporinas, combinaciones beta lactámicos-inhibidores de beta lactamasas e imipenem; aunque se demuestre “*in vitro*” sensibilidad a estos agentes, clínicamente no producen resultados favorables.

La detección en el laboratorio de SAMR puede hacerse por diversos métodos²⁻⁵, y su importancia radica en el impacto directo en la terapia antimicrobiana y la iniciación del aislamiento del paciente.⁶ Este estudio se propone conocer la frecuencia de SAMR y sus características, a partir de la base de datos del laboratorio, analizada mediante el software para vigilancia de la resistencia antimicrobiana en los laboratorios de Bacteriología, denominado WHONET-5.

Métodos

Se realizó un estudio básico, longitudinal prospectivo, a partir de los aislados de *Staphylococcus aureus* recuperados por cultivo de muestras biológicas provenientes de pacientes ambulatorios e ingresados, usuarios de los servicios del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Intermunicipal Docente “Mártires del 9 de Abril”, de Sagua La Grande, Villa Clara, de marzo a diciembre de 2002; se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión con discos de Kirby-Bauer para buscar la presencia de cepas SAMR. Se siguieron para ello las recomendaciones del Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico de los Estados Unidos de América (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*. –NCCLS-) ⁷ de 2001, las cuales incluyen ligeras modificaciones de la prueba estándar. Se utilizó el método directo de preparación del inóculo, usando colonias identificadas como *Staphylococcus aureus*, según los criterios de cultivo y diagnósticos clásicos, de 18-24 horas de incubación, suspendidas en solución salina.

Las placas se inocularon con una suspensión bacteriana equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland y se incorporaron los discos de aquellos fármacos que representaron una alternativa

terapéutica: penicilina (10 UI), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), gentamicina (10µg), amikacina (30 µg), cotrimoxazol (1,25/23,75 µg), fosfocina (200 µg), vancomicina (30 µg) y oxacilina (1µg); esta última, para la detección específica de SAMR. Los discos con antibióticos utilizados en la prueba fueron de producción Oxoid en todos los casos. Las placas de Mueller-Hinton agarizado inoculadas se incubaron 24 horas completas, y al cabo de este tiempo se realizó la lectura usando luz transmitida. Se registraron e interpretaron las zonas de inhibición de acuerdo con las recomendaciones del NCCLS. Cualquier crecimiento observado dentro del halo de inhibición, en forma de colonias o llovizna ligera, fue considerado, de igual forma, como resistente en todos los casos.

Para comprobar la validez de los resultados del antibiograma, se ensayó una vez por semana –o cuando se usó un nuevo lote de Agar de Mueller-Hinton o de disco de antibiótico–, la cepa de referencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se evitó el error sistemático empleando el método de triangulación en los investigadores que participaron en la observación y medición de los halos de inhibición.

Los datos generados por estas pruebas y por las de control de la calidad, se incluyeron con periodicidad diaria en la base de datos del laboratorio; para ello se empleó el software denominado WHONET-5, obtenido a partir de un CDrom que se ejecutó en una microcomputadora Pentium-S IBM compatible con Windows 98, versión 8.0.

Para el análisis de los datos se utilizó WHONET-5, y se aprovecharon las herramientas analíticas que el mismo posee. Se determinaron frecuencias absolutas (número de casos) y relativas (porcentajes) en las distribuciones de frecuencia conformadas.

Resultados

La resistencia a la meticilina fue de 18,93 %. En la comunidad, el porcentaje fue mucho menor que en el hospital (7,06 % versus 50,92 %). Del total de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes ingresados, la mitad correspondió a cepas meticilina-resistente (tabla 1).

Tabla 1 Aislamientos de cepas de *Staphylococcus aureus*.

Tipo de aislamiento de <i>S. aureus</i> .	Pacientes ingresados.		Pacientes ambulatorios.		Total.	
	No.	Por ciento	No.	Por ciento	No.	Por ciento
SASM*	80	49,07	408	92,93	488	81,06
SARM. **	83	50,92	31	7,06	114	18,93
TOTAL	163	100	439	100	602	100

Fuente: Datos de la investigación.

*SASM: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.

**SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Sobre la distribución de los aislamientos entre los distintos servicios hospitalarios con que cuenta la institución (tabla 2), en tres de ellos, aproximadamente la mitad correspondió a SAMR; sin embargo, en el servicio de Medicina es de destacar que *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina ocupó la cuarta parte del total de aislados de su especie.

Tabla 2 Aislamientos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en los servicios hospitalarios.

Tipo de aislamiento de S. aureus.	Medicina		Cirugía		Pediatria		Neonatología		Ginecoobstetricia		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
SAMS*	4	20,00	46	52,87	13	50,00	16	55,17	1	-	80	49,07
SAMR**	16	80,00	41	47,12	13	50,00	13	44,82	0	-	83	50,92
TOTAL	20	100	87	100	26	100	29	100	1	-	163	100

Fuente: Datos de la investigación.

*SAMS: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.

**SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

En la tabla 3 se observó que *S. aureus* sensible a meticilina (SAMS) fue más sensible a otros antibióticos que la cepa resistente, salvo para penicilina y gentamicina, antibióticos frente a los cuales ambas variedades de *S. aureus*, mostraron similares por cientos de resistencia: 100 % y alrededor de 50 %, respectivamente. Sólo para la tetraciclina, SAMS tuvo cifras mayores de resistencia que SAMR.

Tabla 3 Por ciento de resistencia "in vitro" a otros antibióticos probados frente a *S. aureus* en pacientes ingresados.

Tipo de aislamiento de S. aureus (163)	PEN	ERI	GEN	FOS	CIP	CHL	TCY	SXT	VAN	AMK
SAMS*(80)	100	60,00	43,40	46,20	13,00	20,80	51,40	28,30	0,00	0,00
SAMR**(83)	100	81,40	42,50	70,20	22,00	32,50	43,40	41,00	0,00	25,00

Fuente: Datos de la investigación.

PEN: Penicilina G, ERI: Eritromicina, GEN: Gentamicina, FOS: Fosfocina, CIP: Ciprofloxacino, CHL: Cloranfenicol, TCY: Tetraciclina, SXT: Trimetropin/Sulfametoxazol, VAN: Vancomicina, AMK: Amikacina.

*SAMS: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.

**SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Para SAMR los antimicrobianos que demostraron mayor efectividad "in vitro" fueron vancomicina, amikacina y ciprofloxacino. La sensibilidad para vancomicina se encontró intacta en los 602 aislamientos.

Es de notar que SAMR predominó en los aislamientos de *S. aureus* obtenidos de cultivos sanguíneos, y tuvo igual frecuencia que la cepa sensible en el caso de cultivo de secreciones purulentas. En muestras de secreciones conjuntivales predominó la variedad sensible al antibiótico (tabla 4).

Tabla 4 Aislamientos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en muestras de pacientes ingresados.

Tipo de S. aureus.	Orina		Secreciones		Conjuntivales		Sangre		Óticos	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
SAMS. *(80)	4	66,66	69	49,28	4	80,00	3	25,00	0	0,00
SAMR.**(83)	2	33,33	70	50,00	1	20,00	9	75,00	1	100
TOTAL (163)	6	100	140	100	5	100	12	100	1	100

Fuente: Datos de la investigación.

*SAMS: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.

**SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Discusión

La resistencia a meticilina surgió en los hospitales y, subsecuentemente, se diseminó a la comunidad.⁶ La resistencia es mayor en aquellas poblaciones donde existe una alta frecuencia de infección, debido tanto a estados subyacentes del paciente como a intervenciones que comprometen las defensas del hospedero, lo que trae como consecuencia una alta proporción de uso del antibiótico. Cuando los pacientes con riesgo tienen una estrecha proximidad, la transmisión de estos microorganismos entre tales pacientes estará facilitada, así como aumentada la oportunidad de una cepa para diseminarse. Todas estas condiciones están presentes en las unidades de cuidados hospitalarios^{1,6,8}. Ello explica la mayor frecuencia en los pacientes ingresados. Rossi y colaboradores⁹ informaron cifras menores de SAMR que nosotros (39 %), pero con variaciones considerables en los distintos hospitales que intervinieron en el estudio. Otra investigación encontró, de forma coincidente con nuestro trabajo, 50 % de SAMR en el hospital, pero cifras solo un poco mayores en la comunidad.¹⁰ En un estudio realizado en el Reino Unido por el departamento de salud, se halló un significativo aumento de la cepa en cuestión entre 1989 y 1997: 1,5 % del microorganismo fue resistente en 1989, comparado con 31,7 % en 1997¹¹.

El servicio más afectado fue Medicina Interna, resultado que coincide con un estudio similar realizado en un hospital en España¹².

Está descrita la multirresistencia de los aislados resistentes a meticilina^{1,2,4,13}. Nosotros encontramos que se asoció más con resistencia a penicilina, eritromicina, amikacina, cotrimoxazol y fosfocina. En Lisboa se encontró multirresistencia en la mitad de los aislamientos de SARM¹⁴. En Argentina⁹ un alto por ciento de los aislados resistentes a meticilina también lo fueron a gentamicina y eritromicina y, casi exclusivamente, en tales cepas se presentó resistencia a cotrimoxazol y fluorquinolonas. Aunque "in vitro" se evidencie sensibilidad a otros agentes antimicrobianos, "in vivo" no son efectivos; esta aparente contradicción se debe a una respuesta clínica desfavorable ante el uso de tales agentes. Este hecho está ya demostrado para las cepas que portan el gen *mec*^{2,3}. La ausencia de cepas con resistencia a la vancomicina en el grupo estudiado en este trabajo, es un resultado alentador y bastante predecible. Sawicka y colaboradores⁵ encontraron que 52 % de SARM fue sensible a los glicopéptidos. El hallazgo de tales cepas ha estado confinado hasta ahora, para los estafilococos plasmocoagulasa negativa. Se anticipa como futura tendencia la diseminación de cepas SAMR con resistencia intermedia a la vancomicina^{15,16}.

Otras investigaciones⁹ no han encontrado predominio de SAMR entre los aislados de *S. aureus* de hemocultivos como nosotros; por el contrario, Sader y colaboradores encontraron predominio en bacteriemias y en cultivos de heridas, piel y tejidos blandos¹³. Floret halló que SARM es causa importante de septicemia nosocomial, relacionada con catéter y neumonías¹⁷.

Summary

Introduction: Staphylococcus aureus resistant to methycilin is an important disease agent nosocomial and within the community. Detecting it at the laboratory and reporting about it is a relevant aspect for the therapy of infections it causes. **Objective:** To determine the frequency of isolations of Staphylococcus aureus resistant to methycilin. **Design:** Prospective longitudinal basic study carried out at the Laboratory of Bacteriology in Teaching Intermunicipal Hospital of Sagua La Grande, that analyzed cultures of ambulatory and admitted patients positive to S. aureus in the search for stems of Staphylococcus aureus resistant to methycilin. **Methods:** A total of 602 isolations were obtained, from clinical samples of urine, otic, conjunctival, blood and purulent secretions. They underwent a test of antimicrobial susceptibility using the method of diffusion with 1 µg oxacillin disc. Diameters obtained were measured in millimeters after incubation. Recommendations from 2001 NCCLS were applied to carry the test out and interpret the results. **Results:** The frequency of Staphylococcus aureus resistant to methycilin was 18,93 per cent and the relation admitted/ambulatory was 50,92 %/7,06 %. Among patients admitted, S. aureus resistant to methycilin was more resistant to erythromycin and phosphocin. No resistance was found to vancomycin. In blood cultures there was a prevalence of Staphylococcus aureus resistant to methycilin. **Conclusions:** The role of laboratory and tests of susceptibility to help assistant practitioners to make decisions about antibiotic therapy could be wider with the application and report of findings of Staphylococcus aureus resistant to methycilin on the bases of adding this methods to the systematic work of the laboratory.

Referencias bibliográficas

1. Kline MW, Mason EO. Staphylococcus aureus resistente a meticilina: perspectiva pediátrica. Clin Norteam Pediatr. 1988;3:663-74.
2. Hindler JA, Howard BJ, Keiser JF. Antimicrobial agents and antimicrobial susceptibility testing. In: Howard BJ, Keiser GF, Smith TF, Weisfeld AS, Tilton RC. Clinic and pathogenic microbiology. 2^a ed. St. Louis: Mosby; 1994. p. 145-96.
3. Woods GL, Washington JA. Resistant microorganisms and the clinical laboratory. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of clinical microbiology. Washington: ASM Press; 1999. p. 1327-49.
4. Rojas Hernández NM, Fernández López N, Espino Hernández MH, Fernández Ferrer MA. Patrones de drogorresistencia de cepas de staphylococcus aureus de origen clínico humano. Rev Cubana Med Trop. 2001;53(1):58-8.
5. Sawicka-Grzelak A, Rokosz A, Meisel-Mikolajczyk F. Drug resistance in nosocomial strains of staphylococci to methicillin. Med Dosw Mikrobiol. 1998;50(1-2):1-7.
6. World Health Organization. Infection control programmes to contain antimicrobial resistance. Ginebra: World Health Organization; 2001.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standar. 7^a ed. National committee for clinical laboratory Standards document M2-A7. Villanova: nacional committe for clinical laboratory standard; 2001.
8. Llops A. La epidemia silente del siglo XXI. Resistencia antimicrobiana. En: Llops A, Valdés-Dapena MM, Zuazo JL. Microbiología y parasitología médicas vol. 2. La Habana: ECIMED; 2001. p. 91-9.
9. Rossi A, Tokumoto M, Galas M, Soloaga R, Corso A, Altschuler M, et al. Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en Argentina. Programa WHONET, 1995-1996. Rev Panam Salud Pública. 1999;(4):234-41.
10. Quentin C, Grosbot F, Fischer I, Dutilh B, Brochet JP, Jullin J, et al. Antibiotic resistance of staphylococcus aureus in urban experience: 6 month study in Aquitaine. Pathol Biol. 2001;49(1):33-40.
11. United Kingdom Department of Health, Standing Medical Advisory Committee Sub-Group on Antimicrobial Resistance. The path of least resistance [artículo en Internet]. 1999 [citado 20 Mar 2003]; [aprox. 3 p.]. Disponible en:

<http://www.doh.gov.uk/smac1.htm>

12. Corbacho Malo MS, Sarria Amigot J, Hernández Navarrete MJ, Muniesa Cuenca P, Jiménez Bunvales MT, Arribas Llorente JL. Changes in epidemiological pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in a tertiary hospital. Experience of 5 years. *Med Clin (Barc)*. 2000;114(4):136-8.
13. Sader MS, Jones RN. Resistencia a los antimicrobianos de los agentes patógenos causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias en América Latina: reseña general de las estadísticas de 1997. En: Salvatierra-González RY, Benguigui Y. Resistencia antimicrobiana en Las Américas: magnitud del problema y su contención. Washington: OPS; 2000. p. 54-73.
14. Sa Leao R, Santos Sanches I, Dias D, Peres I, Barros RM, de Lencastre H. Detection of an archaic clone of *Staphylococcus aureus* with low level resistance to methicillin in a pediatric hospital in Portugal and in international samples: relics of a formerly widely disseminated strain?. *J Microbiol*. 1999;37(6):1913-20.
15. Smith TL, Pearson ML, Welcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, et al. Emergence of vancomycin resistance in *staphylococcus aureus*. *New Engl J Med*. 1999;370(7):493-501.
16. World Health Organization. Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups. Alliance for the prudent use of antibiotics. Ginebra: World Health Organization; 2001.
17. Floret D, Gillet Y, Lina G. Current problems posed by staphylococcal infections in pediatric patient. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(8):763-7.