UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Staphylococcus aureus* EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS, EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR. OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007

Elaborado por:

Egre. Sergio Rodrigo Quisberth Barrera

(Tesis para optar al titulo de licenciado en bioquímica)

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Staphylococcus aureus* EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS, EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR. OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007

Elaborado por:

Egre. Sergio Rodrigo Quisberth Barrera

Asesor:

Dr. Hans Antonio Scholz Delgado

TABLA DE CONTENIDO

Pag.

I. INTRODUCCION. 1

1. ANTECEDENTES 3

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 6

3. HIPOTESIS 7

4. JUSTIFICACION 8

5. OJETIVOS 9

5.1 Objetivo general 9

5.2 Objetivos específicos 9

II. MARCO TEORICO 10

1. EL MICROORGANISMO 10

1.1 Morfología y fisiología. 10

1.2 Staphylococcus aureus 12

1.3 Factores de virulencia 12

1.3.1 Componentes de la pared celular 12

- Capsula 12

- Peptidoglicano 12

- Acido Teicoico 14

- Proteína A 14

1.3.2 Toxinas Estafilococicas. 15

- Citotoxinas 15

- Toxina Exfoliativa 17

- Enterotoxinas 17

- Toxina de Síndrome de Shock Toxico 18

1.3.3 Enzimas Estafilococicas. 19

- Coagulasa 19

- Catalasa 20

- Fibrinolisinas 20

- Penicilinasas 20
- Hialuronidasa 21
- Otras Enzimas 21
2. RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS 21
2.1 Características de los betalactámicos 21
- Estructura Química 21
- Mecanismo de Acción 22
- Penicilinas penicilinasa resistentes 23
2.2 Evolución histórica de la resistencia a los betalactámicos 25
2.3 Resistencia mediada por betalactamasas 26
2.4 Resistencia a la meticilina 27
2.5 Resistencia a otros antimicrobianos 30
- Resistencia a Aminoglucosidos 31
- Resistencia a Cloranfenicol 31
- Resistencia a Quinolonas 31
- Resistencia a la fosfomicina y acido fusidico 32
- Resistencia a Glucopeptidos 32
3. INFECCIONES POR S. aureus. ASPECTOS CLINICOS 32
3.1 Síndromes clínicos 32
3.1.1. Acción directa 34
- Infecciones localizadas en piel y mucosas 35
- Infecciones metastásicas de localización visceral 35
- Procesos generalizados 35
3.1.2. Acción fundamentalmente exotoxica. 36
- Enterotoxina 36
- Toxina exfoliativa. Síndrome de Piel escaldada 36
- Síndrome de Shock Toxico 37
4. INFECCIONES POR S. aureus. EPIDEMOLOGIA 37
5. METODOS DE DIAGNOSTICO DE S. aureus 38
5.1 Cultivo en medios 38
5.2 Prueba de aglutinación en látex 38

III. MATERIALES Y METODOS 39
1. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES 39
2. ÁREA DE ESTUDIO 40
3. LUGAR DE ESTUDIO 40
4. PERIODO DE ESTUDIO 40
5. TIPO DE ESTUDIO. 40
6. POBLACION EN ESTUDIO. 41
7. METODO DE RECOLECCION DE DATOS 41
8. TOMA DE MUESTRAS. 41
9. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS. 42
Aislamiento de Staphylococcus aureus 42
Determinación de Staphylococcus aureus meticilina resistente 43

IV. RESULTADOS 44

V. DISCUSION 54

VI. CONCLUSIONES 57

VII. RECOMENDACIONES 59

VIII. BIBLIOGRAFIA 60

TABLA DE CONTENIDO DE FIGURAS

		Pag.
Fig 1.	Identificación de los estafilococos por medio de estudios bioquímicos; algoritmo de pruebas empleadas para diferenciar los estafilococos de mayor importancia médica.	10
Fig 2.	Replicación de las bacterias del género Staphylococcus; donde se puede apreciar la división de las células madres en diferentes planos.	11
Fig 3a	Acción antífagocitaria de la proteína A. 1. Estafilococo. 2. Anticuerpos antiestafílocócicos (IgG). 3. Macrófagos con receptores para el fragmento Fc de las IgG. 4. Fijación específica (F[ab]2 = sensibilización a la fagocitosis). 5. Fijación inespecífica en la proteína A (Fc acción antifagocitaria).	14
Fig 3b	Coaglutinación de estafilococos con el complemento. 1. Proteínas del Complemento 2.Estafilococos que han fijado por su extremidad Fc anticuerpos específicos (IgG), dejando libre la extremidad específica (Fab_2). 3. Coaglutinación en presencia de la bacteria con el complemento.	15
Fig 4	Hemólisis alfa ocasionada por la hemolisina alfa, nótese como la hemólisis esta ubicada alrededor de las colonias.	16
Fig 5	La Toxina del Síndrome del Shock Toxico, actúa como superantígeno sobre-estimulando la liberación de mediadores químicos.	18
Fig 6	S. aureus. Producción de coagulasa libre. A) Reacción negativa. B) Reacción positiva.	19
Fig 7	La catalasa descompone el peroxido de hidrogeno en agua y oxigeno.	20
Fig 8	Estructura básica de las penicilinas, presenta un núcleo conocido como B-lactamico unido a un anillo de tiazolidina y a una cadena lateral R, que determina su función.	21
Fig 9	Sitio de acción de los betalactamicos, en la síntesis del peptidoglicano.	23
Fig 10	La meticilina fue el primer betalactamico resistente a betalactamasa generado sintéticamente.	24
Fig 11	Una vez que se observaron los efectos adversos ocasionados por la meticilina, se desarrollaron otros fármacos como son: a) oxacilina; b) la nafcilina y c) la dicloxacilina. Los cuales son menos tóxicos que la meticilina.	24
Fig 12	Representación de un fragmento del DNA cromosómico de SARM, con los siguientes elementos: región reguladora del gen mecA compuesta por los genes mecI y mecR1, plásmidos (pUB110), secuencias de inserción (IS431), y transposones (Tn554) y genes cromosómicos de las recombinasas A y B (ccrA ccrB).	29
Fig 13	Forúnculo de labio superior, es la manifestación más clásica de una infección por S. aureus.	35

TABLA DE CONTENIDO DE TABLAS

		Pag.
Tabla 1	Factores de virulencia de Staphylococcus aureus	13
Tabla 2	Características de los diferentes tipos del cassette cromosomal SCCmec	29
Tabla 3	Genes que confieren resistencia a S. aureus.	30
Tabla 4	Enfermedades causadas por Staphylococcus aureus	33
Tabla 5	Número de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función a la unidad de internación.	44
Tabla 6	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función a la edad.	45
Tabla 7	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función al género.	46
Tabla 8	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función al tipo de muestra.	47
Tabla 9	Numero de casos encontrados de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente encontrados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007	48
Tabla 10	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente según la edad hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	49
Tabla 11	Relación existente entre la edad e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	50
Tabla 12	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el género; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	51
Tabla 13	Estudio de correlación entre las variables género e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	52
Tabla 14	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el tipo de muestra; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	53

TABLA DE CONTENIDO DE GRÁFICAS

		Pag.
Grafica 1	Número de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función a la unidad de internación.	44
Grafica 2	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función a la edad.	45
Grafica 3	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función al género.	46
Grafica 4	Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007 en función al tipo de muestra.	47
Grafica 5	Numero de casos encontrados de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente encontrados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007	48
Grafica 6	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente según la edad hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	49
Grafica 7	Relación existente entre la edad e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	50
Grafica 8	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el género; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	51
Grafica 9	Estudio de correlación entre las variables género e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	52
Grafica 10	Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el tipo de muestra; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.	53

RESUMEN

El estudio de la resistencia de *Staphylococcus aureus* en la actualidad ha cobrado gran importancia; puesto que cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) han sido asociadas a infecciones nosocomiales; y han llegado a convertirse en un problema de salud publica en países desarrollados.

El método empleado para la detección de este microorganismo es básicamente mediante el antibiograma, el cual de preferencia debe ser acompañado de la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria, el cual nos proporciona el dato de resistencia a determinados antimicrobianos; y en particular para este caso a los β-lactamicos resistentes a β-lactamasa (oxacilina, meticilina).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son los siguientes: se encontraron 4 casos positivos de infección por Staphylococcus aureus resistentes a meticilina procedentes de las unidades de UTI y Neonatología; en función a la edad los menores de 1 año son más propensos a adquirir infección con un porcentaje de 53%. En este grupo se encuentran 3 casos de Staphylococcus aureus resistente a meticilina (χ^2=17.059; p<0,05). Y se observa una relación inversamente proporcional entre la edad y la infección por este patógeno; con coeficientes de correlación estadísticamente significativos (τ b de Kendall = -0,111 y ρ de Spearman = -0,117: p>0,05). El genero masculino fue el mas propenso a adquirir infección por Staphylococcus aureus con un 56%. Además se encuentran 3 casos de Staphylococcus aureus resistente a meticilina; no siendo estadísticamente significativo (χ^2=0.471; p>0,05). En función al tipo de muestra se observa que las muestras de la que se logro mayor cantidad de aislamientos de Staphylococcus aureus son secreción conjuntival y exudado mostrando con porcentajes de 47,1% y 38,2% respectivamente. En estos dos tipos de muestra encontró 2 casos de Staphylococcus aureus resistente a meticilina; resultado estadísticamente significativo (χ^2=17,529; p<0,05).

ABSTRAC

The study of *Staphylococcus aureus* resistant to different treatments at present has assumed great importance, since the strains resistant to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) have been associated with nosocomial infections, as in the health center patients have, more likely to contract by direct contact with this pathogen.

The method used to detect this organism is basically through the antibiogram, which should preferably be accompanied by proof Minimum Inhibitory Concentration, which provides us with the data of resistance to certain antibiotics, and particularly for this case to β-lactamase resistant to β-lactamase (oxacillin, methicillin).

The results of this work are as follows: 4 were found positive cases of infection Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* from units and Neonatal ITU; according to age infants under 1 year old are more likely to acquire infection a percentage of 53%. In this group are 3 cases of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (χ^2=17.059; p<0,05). And there is an inverse relationship between age and infection by this pathogen, with statistically significant correlation coefficients (τ b of Kendall = -0,111 and ρ of Spearman = -0,117: p>0,05). Gender male was the most likely to acquire infection with *Staphylococcus aureus* 56%. In addition there are 3 cases of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, not being statistically significant (χ^2=0.471; p>0,05). Depending on the type of sample notes that samples of that achievement is much isolates of *Staphylococcus aureus* are showing exudates secretion and conjunctiva with percentages of 47,1% and 38,2% respectively. In these two types of displays found 2 cases of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* statistically significant result (χ^2=17,529; p<0,05).

I. INTRODUCCION.

Las bacterias del genero *Staphylococcus* son cocos Gram positivos, inmóviles, cuyo desarrollo es en forma de racimo de uva, presentan un metabolismo de tipo aerobio-anaerobio facultativo, son catalasa positivos y desarrollan en medios que contienen cloruro de sodio al 10%; este genero posee 32 especies de las cuales las que presentan mayor interés en la clínica son: S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus, S. capitis y S. haemolyticus; pero esto no significa que las otras especies no puedan llegar a ocasionar infecciones en personas inmunodeprimidas o en niños con sistema inmune no desarrollado completamente (12, 17, 20, 27, 29, 31).

Staphylococcus aureus es el agente patógeno por excelencia de este grupo de bacterias; y se diferencia del resto de los *Staphylococcus* por dar positivo a la prueba de la coagulasa y por que este tiene la capacidad de fermentar al manitol; además presenta gran cantidad de factores intrínsecos (como la proteina A, enzimas, toxinas, etc.) que le permiten invadir al huésped llegando a ocasionar daños de gran magnitud (17, 27, 31, 34).

S. aureus es un patógeno importante para el ser humano ya que puede causar una gran variedad de infecciones tanto en individuos sanos como en inmunodeficientes. También puede colonizar la piel y las fosas nasales facilitando su transmisión en particular en ambientes hospitalarios a menos que se sigan prácticas apropiadas de control de infecciones. La resistencia a los antibióticos comúnmente usados está aumentando a nivel mundial. Más del 90% de *S. aureus* presentan resistencia a la penicilina. En muestras aisladas de las unidades de cuidado intensivo en los Estados Unidos se encontró más del 50% de resistencia a oxacilina. En forma creciente también se ha observado resistencia a oxacilina en *S. aureus* aislados en la comunidad. Con frecuencia se prescribe vancomicina para tratar infecciones provocadas por *S. aureus* con resistencia múltiple. Sin embargo, se han reportado casos de disminución de la susceptibilidad a vancomicina en varios países incluyendo los Estados Unidos. En el 2002 se aisló la primera cepa totalmente resistente a vancomicina (CIM = 1024 µg/mL)

en un paciente de diálisis en Michigan. Esta bacteria poseía el gene de resistencia a la vancomicina *vanA* (4, 5, 10, 28).

En el presente estudio se demuestra la presencia de este microorganismo en niños menores de 5 años quienes cursaron procesos infecciosos ocasionados por este germen. El método empleado para su estudio fue el método convencional de cultivo y antibiograma; donde los resultados no fueron confirmados por la prueba de MIC y MBC.

El periodo de estudio estuvo comprendido por los primeros meses del año 2007; cabe resaltar que estos fueron de enero a marzo del 2007, siendo desarrollado el trabajo en el laboratorio del hospital del niño; y gran parte en la ex-unidad de patología, la cual contenía el equipamiento mínimo para desarrollar este proyecto; para la preparación de los medios de cultivo se empleo el ambiente del laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, ya que en los laboratorios del hospital no se contaba con Autoclave.

1. ANTECEDENTES

Durante los últimos 20 años las cepas *Staphylococcus aureus* emergieron, mostrando variedad en cuanto a la resistencia a los tratamientos empleados; en la actualidad es uno de los microorganismos multirresistentes que ocupa los primeros lugares como patógeno nosocomial en todo el mundo. En virtud de ello, se debe dirigir especial atención y crear programas de vigilancia y control específicos para este microorganismo, donde el laboratorio de Microbiología juega un rol importante a través de la aplicación métodos fenotípicos y genotípicos que permitan establecer su relación epidemiológica, especialmente en brotes hospitalarios (11, 15, 18).

Después del suceso inicial de las penicilinas naturales en el tratamiento de infecciones estafilocóccicas, la aparición de estafilococos productores de betalactamasas disminuyeron la efectividad la penicilina G. Esta situación promovió el desarrollo de investigaciones que llevaron al desarrollo de penicilinas semisintéticas penicilinasa resistentes. (9, 29)

Este grupo de penicilinas poseen una cadena lateral acilica que inhibe la acción de la penicilinasa y por consiguiente previniesen la apertura del anillo betalactámico. La meticilina fue la primera penicilina semisintética penicilinasa resistente que se introdujo para uso clínico, por vía parenteral. Este fármaco fue altamente eficaz contra infecciones estafilocóccicas, pero se asoció a la ocurrencia de nefritis intersticial y su uso fue descontinuado. Posteriormente aparecieron la Oxacilina y la Nafcilina para uso parenteral, y dos drogas para uso oral: La Cloxacilina y la Dicloxacilina. La Nafcilina y la Oxacilina reemplazaron exitosamente a la meticilina. Ambas drogas tienen una alta unión a proteínas (90% y 94%) y son excretadas por el hígado. (8, 9)

Lo malo es que con el tiempo surgieron estafilococos resistentes a estas penicilinas penicilinasas resistentes. Estas bacterias son llamadas estafilococos meticilino resistentes. Esta resistencia está basada en la producción de nuevas proteínas ligadoras de penicilinas que tienen afinidad disminuida por estas penicilinas. Estos estafilococos meticilino resistentes se han tratado empíricamente con Vancomicina. (8, 9, 25, 34)

En el momento actual la multirresistencia de los "nuevos patógenos", la resistencia a meticilina y vancomicina de *S. aureus*, *S. epidermidis* y otros estafilococos coagulasa negativos, la resistencia a glucopéptidos en enterococos y la resistencia a penicilina en *S. pneumoniae* constituyen el principal problema terapéutico en microorganismos Gram positivos y fundamentalmente en pacientes inmunocomprometidos, en los que la presencia de infección está asociada a elevadas tasas de mortalidad. (8, 9)

La incidencia de infecciones nosocomiales por *S.aureus* resistente a meticilina (SARM) se ha ido incrementando desde su aparición en la mayoría de los países. Durante los años 80 las cepas de SARM se extendieron por hospitales de Europa, Australia y Estados Unidos. En Europa se experimentó un notable ascenso desde <1% en 1980 hasta el 30% en 1991, con una distribución desigual según los países: mientras Holanda o Dinamarca presentaron una baja prevalencia (6%), los países del sur de Europa como Grecia, Francia o España presentaron la prevalencia más alta (30%). (36)

En un estudio en Cuba durante los años 2000-2001 se observó la presencia de este agente patógeno en niños internados en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". De los niños sanos, 0,35 % y de los hospitalizados, 2 % constituyeron portadores nasales de cepas SARM. (15)

En un estudio en Venezuela el mayor porcentaje de las cepas de SARM se ubicaron en el fagogrupo II (52%). El antibiotipo de resistencia a la oxacilina, gentamicina, eritromicina y tobramicina fue el predominante en las cepas estudiadas. (33)

En Bolivia existen estudios que indican que este microorganismo ocupa el segundo lugar en los agentes patógenos que infectan a los niños; el año 2000 a 2001 se realizo un estudio cuyo resultados mostraron que los microorganismos más frecuentes fueron la *Pseudomonas aeruginosa* (37.5%), *Staphylococcus aureus* (33.3%) y *Escherichia coli* (22.2%), mismos que presentaron mayor sensibilidad a los aminoglucosidos, quinolonas y cefalosporinas de tercera generación y mayor resistencia a antibióticos beta-lactámicos. (24)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Qué relación existe entre la infección ocasionada por *S. aureus* a niños menores de 5 años frente a la edad, genero y unidad de internación; en el Hospital del Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uria” de la Ciudad de La Paz?

3. HIPOTESIS

Según datos presentados por la Lic. Hernández 2003; y Dra. Toraño 2001; se observa que la edad en la que se encuentra mayor posibilidad de adquirir una infección por este patógeno es durante los primeros días de nacido en neonatos. Esto se justifica por la baja colonización de bacterias de la flora normal en vías respiratorias y un mayor contacto con el patógeno durante las primeras horas de vida, el cual coloniza estas superficies.

En este caso la proporción no varía; esto se justifica ya que tanto varones como mujeres, durante sus primeros años de vida reciben el mismo trato y las mismas atenciones tanto en el centro de salud como en sus hogares; por consecuencia están expuestos a los mismos factores de riesgo y la posibilidad de que afecte a un varón o a una mujer es la misma.

Según los resultados presentados por la Dra. Toraño; la muestra mas representativa para este tipo de estudios es el exudado nasal; donde se observa una mayor recuperación de de este microorganismo; esto se justifica ya que esta relacionado con la habilidad de esta bacteria de adherirse con mayor avidez a la superficie de las cavidades nasales, el cual se constituye como un nicho ecológico fundamental para este microorganismo. Bibel et al proponen que S. aureus se une a las células epiteliales nasales a través del acido teicoico el cual funciona como una adhesina.

4. JUSTIFICACION

Con la creciente población, los viajes continuos y el uso de la medicina naturista en nuestro medio; la posibilidad de contraer infecciones por este patógeno esta en ascenso, y los niños menores presentan mayor posibilidad de adquirir a este patógeno y diseminarlo; ya que presentan un sistema inmune que no esta completamente desarrollado.

Este trabajo pretende incrementar el conocimiento acerca de los daños de este patógeno en niños menores, además acotar información sobre este microorganismo en la población infantil de nuestra ciudad.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Realizar la detección de microorganismos del genero *Staphylococcus aureus* en niños menores de 5 años, internados en el Hospital del niño Ovidio Aliaga Uria de la Ciudad de La Paz, durante los meses de enero a marzo del 2007.

5.2 Objetivos específicos:

- Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función a la edad.
- Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función al género.
- Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función al tipo de muestra.
- Determinar la relación existente entre edad de los niños e infección por *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la relación existente entre género de los niños e infección por *Staphylococcus aureus*.

II. MARCO TEORICO

6. EL MICROORGANISMO

6.1 Morfología y fisiología.

Los estafilococos son un grupo de bacterias que incluye 44 especies conocidas por el hombre. Pertenecen a la familia *Micrococcaceae* (cocos Gram positivos, catalasa positiva) que incluye a tres géneros los *Micrococus*, *Planococcus* y *Staphylococcus*, teniendo este último la capacidad de producir acido a partir de la glucosa en anaerobiosis. (12, 13, 37)

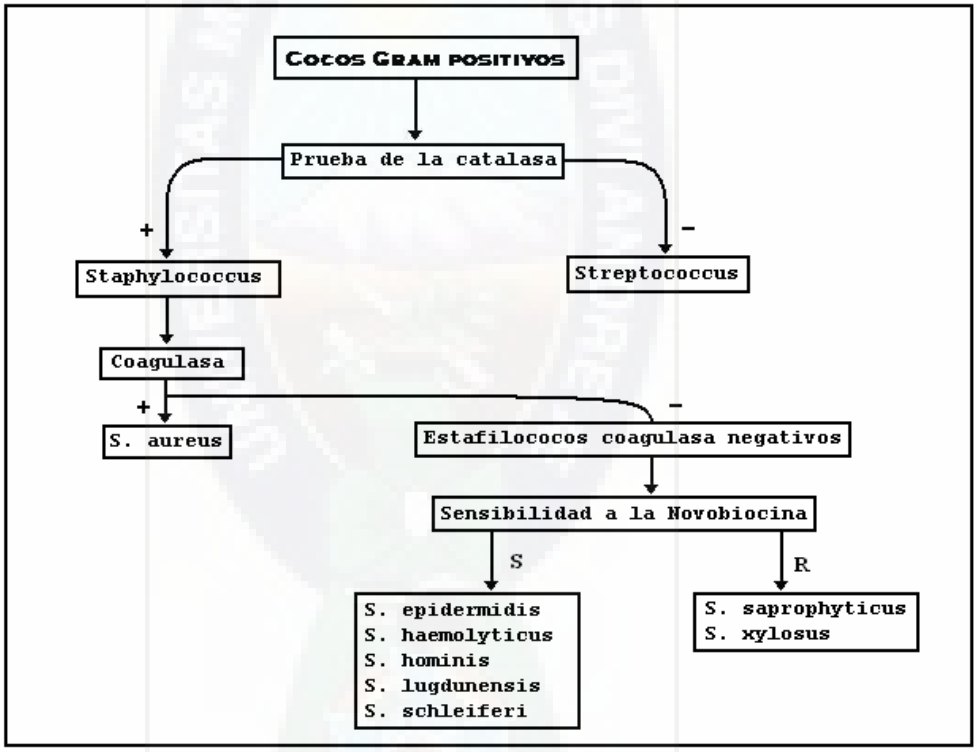


Fig 1. Identificación de los estafilococos por medio de estudios bioquímicos; algoritmo de pruebas empleadas para difereciar los estafilococos de mayor importancia médica.

De las 44 especies conocidas, cada vez se van incrementando el número de especies que ocasionan infecciones en el hombre, siendo *Staphylococcus aureus* el más representativo de este genero, sin descartar a *S. epidermidis;*

S. saprophyticus; S. haemolyticus y *S. lugdunensis*; que en conjunto se conocen como coagulasa negativos (CoNS). Fig 1. (12, 20, 27, 37)

Cuando estos desarrollan en medios sólidos tienen la tendencia agruparse en forma de racimos; esto debido a que presentan una morfología de esferas perfectas; de tal forma que su división es en diferentes planos, sean estos paralelos o perpendiculares entre si, no llegando a concretar la separación completa de las células hijas. Fig 2. A través del microscopio estos pueden ser vistos como cocos Gram positivos, miden de 0,8 a 1 µm, son inmóviles por lo general. (27, 29, 37)

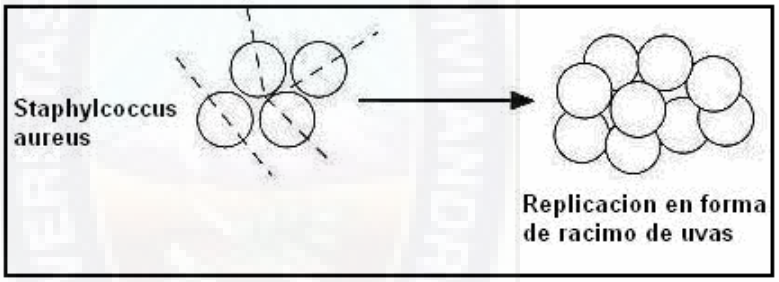


Fig 2. Replicación de las bacterias del géne_ ro Staphylococcus; donde se puede apreciar la division de las celulas madres en diferentes planos

En cuanto a su metabolismo, este es básicamente fermentativo, sin embargo, la presencia de enzimas desdobladoras de peróxidos como la catalasa, le permite desarrollarse en presencia de oxigeno y utilizar la cadena respiratoria como fuente de energía. En anaerobiosis (test de OF) es capaz de utilizar la glucosa (en el caso de todos los *Staphylococcus*) y el manitol (solo *S. aureus*). Estos microorganismos no son exigentes nutricionalmente, pudiendo desarrollar en medios simples como el caldo nutritivo y el agar nutritivo. Son mesófilos, desarrollando en un rango amplio de temperatura (entre 10 a 55ºC); pueden tolerar medios suplementados con 7,5% de cloruro de sodio, lo es útil al diseñar medios selectivos y diferenciales como el agar manitol salado. (27, 37)

6.2 *Staphylococcus aureus*.

La especie de mayor importancia clínica es el *Staphylococcus aureus*, el cual debe su nombre a la pigmentación dorada que produce durante su desarrollo; siendo denominado el estáfilo dorado. Durante su desarrollo; en medios líquidos este microorganismo produce un enturbiamiento homogéneo. En medios sólidos, forma colonias redondas, de bordes netos, de superficie lisa y brillante, convexas, de 1 a 2 mm de diámetro, con olor rancio, consistencia mantecosa (butírico) y pigmento característico, el cual es un lipocromo soluble en cloroformo y solventes orgánicos e insoluble en agua. En el caso de cultivo sobre agar sangre se observa un halo de hemólisis α (hemólisis incompleta) producida por las hemolisinas estafilocócicas. Estas son 5, denominados con las letras griegas alfa, beta, gamma, delta y epsilon, siendo α la más importante. (6, 12, 13, 14, 16, 26, 27, 34).

6.3 Factores de Virulencia. (Tabla 1)

6.3.1 Componentes de la pared celular

La capsula es una capa de polisacáridos sueltos, se encuentra de manera ocasional en los cultivos *in vitro*, pero se presume que *in vivo* esta se encuentra con mayor frecuencia. La capsula esta compuesta de acido manosamín urónico y es antigénica, habiéndose determinado 4 serotipos capsulares. La capsula posee propiedades antifagocíticas protegiendo a la bacteria de la fagocitosis, a la vez inhibe la proliferación de las células mononucleares, determinando la mayor invasividad de la bacteria (10, 12, 13, 16, 18, 25, 27, 29, 34).

El peptidoglicano; en *S. aureus* las uniones entre las cadenas tetrapeptidicas están formadas por puentes de penta glicina que le dan la sensibilidad a la lisostafina, característica de las bacterias del genero *Staphylococcus*. El peptidoglicano tiene una actividad de tipo endotoxina,

que estimula la producción de pirógenos endógenos, la activación del complemento y la formación de IL-1 por parte de los monocitos y la agregación de de los polimorfo nucleares llegándose a formar abscesos (10, 12, 13, 16, 18, 25, 27, 29, 34).

Tabla 1 Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*

Factores	**Efectos Biológicos**
Componentes de la estructura	
Capsula	Es una Adhesina, además impide la quimiotaxis y la fagocitosis, inhibe la proliferación de células mononucleares.
Peptidoglicano	Proporciona estabilidad osmótica, y estimula la producción de pirógenos endogenos, y es un quimioatrayente leucocitario.
Acido teicoico	Regula la concentración cationica de la membrana celular, se una a la fibronectina.
Proteína A	Altera función ciliar, estimula respuesta inflamatoria, media en el daño tisular con la producción de radicales tóxicos de oxigeno.
Toxinas	
Citotoxinas (α, β, δ, γ y leucocidina de PV)	Tiene un mecanismo poro-perforadora sobre las membranas de leucocitos, eritrocitos, macrófagos, plaquetas y fibroblastos.
Toxina exfoliativa (ETA y ETB)	Son proteasas, que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermidis.
Enterotoxinas (A-E, G-I)	Súper antígenos (Estimula la proliferación de las células T y la liberación de citocinas); estimula la liberación de de mediadores químicos inflamatorios en los mastocitos, aumentando el peristaltismo
Toxina del Síndrome de Shock Toxico TSST-1	Súper antígenos (Estimula la proliferación de las células T y la liberación de citocinas); produce extravasación o la destrucción celular de las células endoteliales.
Enzimas	
Coagulasa	Convierte el fibrinogeno en fibrina.
Catalasa	Cataliza la descomposición del peroxido de hidrogeno.
Hialuronidasa	Hidroliza los ácidos hialuronicos en el tejido conectivo, facilitando la diseminación de los estafilococos en los tejidos
Fibrinolisina	Disuelve los coágulos de fibrina.
Lipasas	Hidroliza los lípidos.
Nucleasas	Hidroliza el ADN.
Penicilasa	Hidroliza las penicilinas

El ácido teicoico es una proteína formada por cadenas de tamaño variable de hasta más de 30 polímeros unidos por puentes fosfodiester. El acido teicocico de ribitol, con residuos de N-acetil glucosamina en el caso de *S. aureus* mientras que el acido teicoico de glicerol, con residuos glucosilo esta presente en *S. epidermidis.* Este ácido es el principal antígeno de superficie de los *Staphylococcus*, participa en la recepción de fagocitos y facilita la unión de los gérmenes a las membranas de las células del huésped y a las células endoteliales, a través de sus uniones específicas a la fibronectina (10, 12, 13, 16, 18, 25, 27, 29, 34).

Proteína A, específica de especie *S. aureus*, se encuentra en la pared celular distribuida de manera uniforme y puede liberarse en el medio. Presenta la propiedad de unirse a la extremidad Fc de las inmunoglobulinas IgG_1, IgG_2, e IgG_4, por lo que evita de manera eficaz la eliminación mediada por anticuerpos Fig 3a. La Proteína A extracelular se puede unir también a los anticuerpos formando inmunocomplejos que activan el complemento Fig 3b (10, 12, 13, 16, 18, 25, 27, 29, 34).

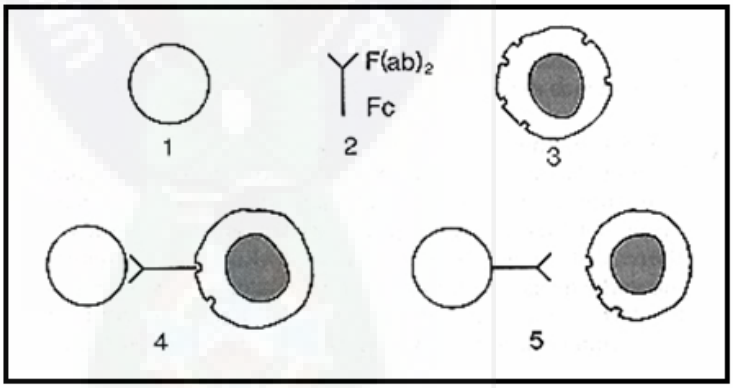


Fig 3a. Acción antifagocitaria de la proteína A. 1. Estafilococo. 2. Anticuerpos antiestafilocócicos (IgG). 3. Macrófagos con receptores para el fragmento Fc de las IgG. 4. Fijación específica (F[ab]2 = sensibilización a la fagocitosis). 5. Fijación inespecífica en la proteína A (Fc acción antifagocitaria).

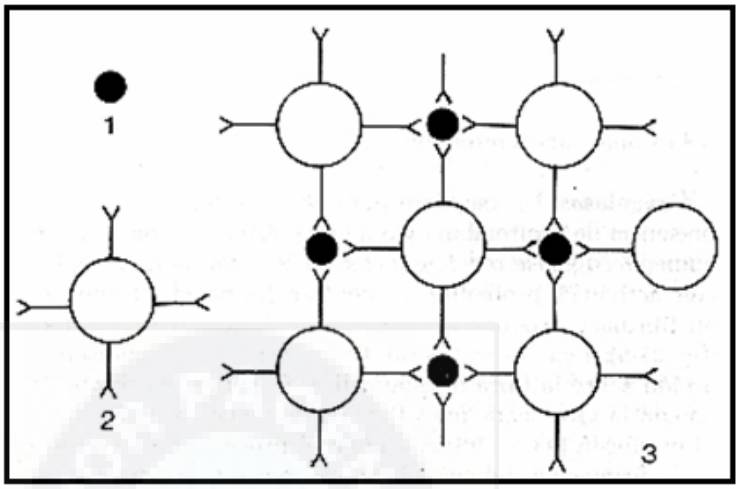


Fig 3b. Coaglutinación de estafilococos con el complemento. 1. Proteínas del Complemento 2.Estafilococos que han fijado por su extremidad Fc anticuerpos específicos (IgG), dejando libre la extremidad específica (Fab_2). 3. Coaglutinación en presencia de la bacteria con el complemento.

6.3.2 Toxinas Estafilococicas.

Citotoxinas. Son exotoxinas proteicas termolábiles, que presentan una acción lítica sobre los hematíes y una acción tóxica sobre otras células (leucocitos, macrófagos, fibroblastos). En realidad son toxinas citolíticas de las cuales se conocen 4 toxinas o hemolisinas:

Toxina o hemolisina "alfa". Esta toxina puede estar codificada tanto por el cromosoma bacteriano como por Plásmidos. Es una fosfolipasa de 33.000 D de tamaño, presenta propiedades hemolíticas sobre los glóbulos rojos de conejo a 37 °C y es la responsable de las zonas de hemólisis que se observan alrededor de las colonias en placas de agar sangre (Fig 4). Esta toxina además, destruye el músculo liso de los vasos sanguíneos, se integra en las regiones hidrofobicas de la membrana del huésped, llevando a la formación de poros de 1-2 nm, lo que ocasiona el flujo de salida de los iones K^+ y la entrada de Na^+, Ca^{++} y otras moléculas pequeñas, dando como consecuencia la destrucción del tejido (10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

Fig. 4 Hemolisis alfa ocasionada por la hemolisina alfa, notese como la hemolisi esta ubicada alrededor de las colonias.

Toxina o hemolisina beta. Conocida también como esfingomielinasa C, es una proteína termolábil de 35.00D de tamaño. Es activa sobre los glóbulos rojos de carnero, cuya zona de hemólisis aumenta de tamaño sí después de incubar la placa a 37 °C, se coloca a 4 °C (lisis calor-frío): es, además, dermonecrótca y frecuente en los estafilococos de origen animal. Esta enzima presenta especificidad para la esfingomielina y la lisofosfatidilcolina, y es toxica para una variedad de células. Cataliza la hidrólisis de los fosfolipidos de la membrana dando origen a poros del tamaño variable en función a la cantidad de esfingomielina que esta presente (10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

Toxina o hemolisina delta. Es un polipéptido de 3.000 D; la toxina tiene un amplio espectro de actividad citolítica, afecta a los eritrocitos, y a muchas células. Se cree que esta toxina actúa como surfactante que rompe las membranas celulares mediante una acción de tipo detergente.

Toxina o hemolisina gamma y Leucocidina de Panton-Valentine. Son toxinas formadas por dos subunidades, una F (proteínas de elusión rápida) y otra S (proteínas de elusión lenta), que se fijan en los fosfolípidos de la membrana de los polimorfonucleares y macrófagos y producen alteraciones de la permeabilidad que ocasionan la muerte de los fagocitos. Por otra parte, los estafilococos patógenos se caracterizan por su capacidad de supervivencia y de multiplicación en los fagocitos, a diferencia de los no patógenos (10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

Toxina Exfoliativa. Algunas cepas de S. *aureus* son capaces de producir una exotoxina proteica dermotropa, que a partir de una lesión local difunde por la sangre y llega a la piel, donde produce enrojecimiento y lesiones seguidas de una exfoliación que se extiende. Esta toxina es la responsable de la patología conocida como el Síndrome de la piel escaldada estafilococica. En la actualidad se han identificado dos formas distintas de toxina exfoliativa, la ETA que es termoestable y el gen es cromosómico; y la ETB que es termolábil y es mediada por un plasmido, ambas pueden producir enfermedad. El proceso infeccioso mediado por estas enzimas es mas frecuente en niños pequeños y neonatos, ya que se ha identificado que ambas toxinas se unen a los Glucolipidos del tipo GM4, el cual se encuentra en grandes proporciones en la epidermidis de los neonatos, llegando a desaparecer en personas mayores (10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

Enterotoxinas. Son exotoxinas proteicas que presentan la propiedad de ser estables a 100ºC durante 30 minutos y a los fermentos proteolíticos (jugo gástrico y del yeyuno). En la actualidad se conocen ocho tipos de enterotoxinas (A-E; G-I) y tres subtipos de la enterotoxina C. Se tiene la hipótesis de que estas toxinas se fijan en los receptores nerviosos del tubo digestivo produciendo náuseas, vómitos y diarrea, por acción de la toxina sobre el centro del vómito. Son antigénicos y se transforman en anatoxinas. La enterotoxina A es la que se asocia con más frecuencia a la

enfermedad. Las enterotoxínas C y D se pueden encontrar con frecuencia en los lácteos contaminados; la enterotoxina B es causante de la colitis pseudomembranosa estafilococica (10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

Toxina de Síndrome de Shock Toxico (TSST-1). Anteriormente era conocida con el nombre de exotoxina pirogenica C y enterotoxina F; es una toxina de 22.000 D, es termoestable y resistente a la proteolisis, se encuentra mediada por un gen cromosomal. Esta toxina es un super-antígeno capaz de inducir la liberación inespecífica de citocinas en los macrófagos y en los linfocitos, y una hipersensibilidad aumentada a la endotoxina (Fig. 5). A bajas concentraciones la TSST-1 produce también una extravasación de las células endoteliales, mientras que a altas concentraciones causa en las células un efecto citotóxico. La capacidad de la TSST-1 para atravesar las barreras mucosas, incluso cuando la infección esta localizada en la vagina o en heridas, es res-ponsable de los efectos sistémicos de SST (1, 10, 16, 18, 19, 25, 27, 29, 34).

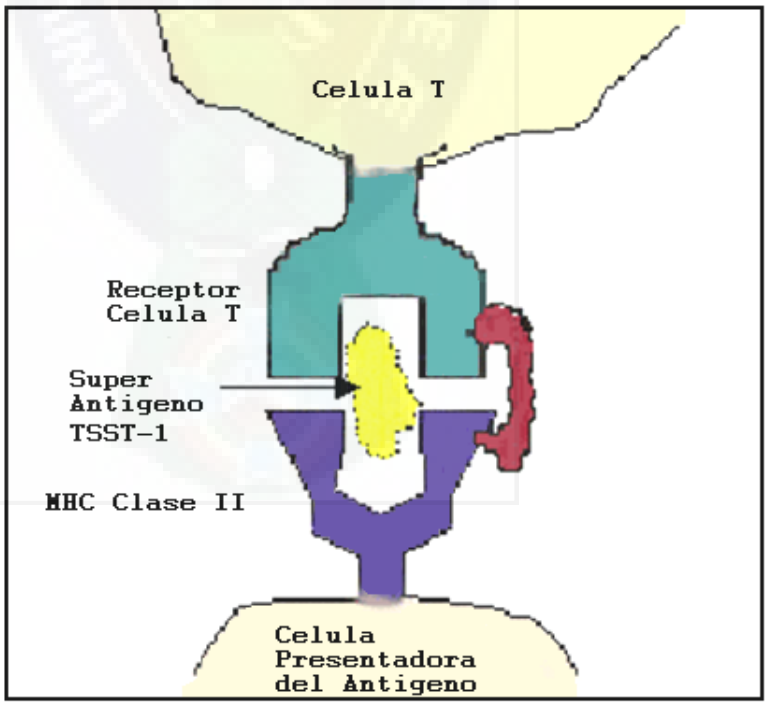


Fig. 5. La Toxina del Sindrome de Shock Toxico, actua como superantigeno sobre-estimulando la liberación de mediadores químicos.

6.3.3 Enzimas Estafilococicas.

Coagulasas. La coagulasa libre es una enzima la cual en presencia de protrombina y/o de un cofactor del plasma sanguíneo *(coagulase reacting factor* o CRF), forma un complejo con actividad proteolítica, que transforma el fibrinógeno en fibrina y produce la coagulación del plasma sanguíneo (Fig. 6); a su vez se liberan fíbrinopéptidos que presentan acción sobre la fibra muscular lisa. Se considera relacionada con la virulencia, pues la mayoría de cepas de *S. aureus* la producen (98 %). Interviene en el proceso inflamatorio y en la formación del coágulo intravenoso, factor fundamental en la producción de sepsis. Existe, además, una proteína de la pared celular que presenta una acción semejante *(clumping factor* o coagulasa ligada), que se ha supuesto que sería la causa de la formación de una cubierta protectora de fibrina responsable de la agrupación de los estafilococos y probablemente de su acción inhibidora de la fagocitosis. En la actualidad no se considera relacionado con lo virulencia. En el laboratorio, la prueba de la coagulasa en tubo se utiliza para diferenciar *S. aureus* de *S. epidermidis.* Sin embargo, hay que tener en cuenta que el poder patógeno del estafilococo no depende exclusivamente de la producción de coagulasa, sino de su asociación con otros factores (3, 18, 20, 25, 27, 29, 34).

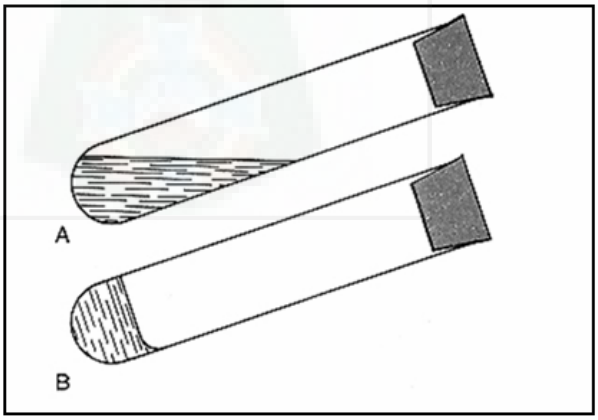


Fig. 6. *S. aureus*. Producción de coagulasa libre. A) Reacción negativa. B) Reacción positiva.

Catalasa. El metabolismo bacteriano genera como producto metabolitos tóxicos como ser el peroxido de hidrogeno; este metabolito posteriormente es degradado por la enzima catalasa (Fig. 7). En la fagocitosis y la formación del fagosoma, por medio de los polimorfonucleares, la eliminación de los estafilococos esta mediada por radicales tóxicos de oxigeno o ERO`s; la producción de catalasa ayuda a contrarrestar los mecanismos de defensa del huésped (3, 18, 20, 25, 27, 29, 34).

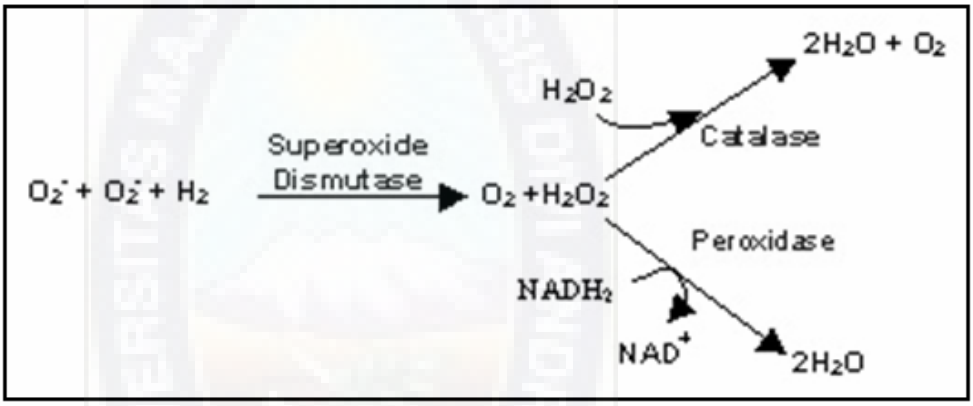


Fig. 7. La catalasa descompone el peroxido de hidrogeno en agua y oxigeno.

Fibrinolisinas (estafiloquinasas). Transforman el plasminogeno en plasmina o fibrinolisina, que descompone las mallas de fibrina. Contribuyen a la capacidad de invasión del estafilococo en los focos inflamatorios y es responsable de la descomposición del coágulo de fibrina y de la formación de microémbolos causantes de las metástasis supuradas. Son elaborados principalmente por los estafilococos patógenos de origen humano (18, 25, 27, 29, 34).

Penicilinasas. Son betalactamasas inducibles, sintetizadas por las cepas resistentes que inactivan la penicilina por apertura del anillo Betalactámico. Su producción es debida a un plásmido que se transmite por transducción (5, 18, 25, 27, 29, 34).

Hialuronidasa. Esta enzima degrada los ácidos hialuronicos, los mucopolisacaridos ácidos que se encuentran en la matriz acelular del tejido conectivo. Esta enzima favorece la diseminación de S. aureus en los tejidos (5, 18, 25, 27, 29, 34).

Otras enzimas. Existen otras enzimas, como *desoxirribonucleasa termoestable, fosfatasas y lipasas,* que coadyuvan al establecimiento de la infección, invasión y producción de lesiones, y que en cierta manera se encuentran relacionadas con la virulencia (5, 18, 25, 27, 29, 34).

Hay que tener en cuenta que no todas las cepas de estafilococos presentan los mismos antígenos ni producen las mismas toxinas ni fermentos en calidad y cantidad; por ello, la acción patógena difiere según la cepa que se considere y depende de lo acción combinada de estas sustancias en relación con el grado de resistencia orgánica (1, 5, 18, 25, 27, 29, 34).

7. RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS

7.1 Características de los betalactámicos.

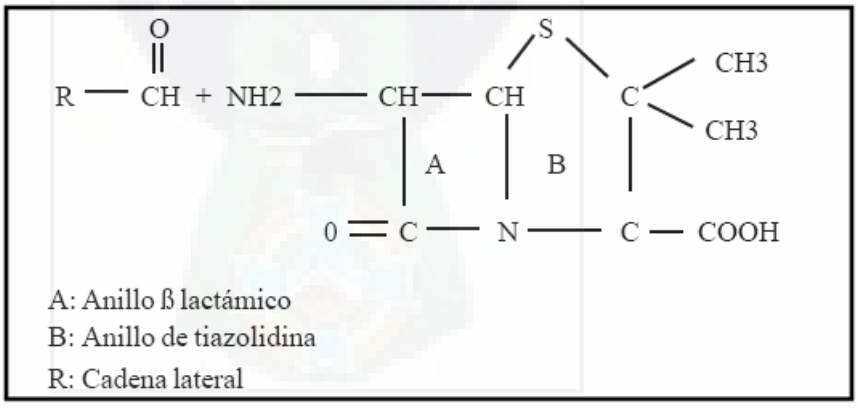


Fig. 8. Estructura básica de las penicilinas, presenta un nucleo conocido como B-lactamico unido a un anillo de tiazolidina y a una cadena lateral R, que determina su funcion.

Estructura Química. La estructura básica de la penicilina (ácido 6-aminopenicilanico) consiste en un anillo de tiazolidina unido a un anillo

betalactámico y una cadena lateral (que está compuesta por un grupo amino secundario). Fig. 8. (5, 8, 9, 18, 29, 34).

La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilanico es esencial para la actividad biológica de este compuesto. Si las betalactamasas bacterianas clivan el anillo betalactámico, se producen ácidos penicilóicos que carecen de actividad antibacteriana. Este proceso puede ser prevenido por la adición de ciertas cadenas laterales acílicas que protegen el anillo betalactámico o por combinación de la penicilina con un inhibidor de las betalactamasas (como ácido clavulínico, sulbactam o tazobactam) que inactivan algunas de estas enzimas bacterianas (5, 8, 9, 18, 27, 29, 34).

Algunas manipulaciones en la cadena lateral han alterado el espectro antibacteriano, la susceptibilidad y las propiedades farmacocinéticas de las penicilinas, estos cambios han aumentado el espectro contra bacterias gram (-) incluyendo pseudomona aeruginosa (5, 8, 9).

Mecanismo de acción. Su mecanismo de acción se caracteriza por su capacidad de inhibir la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana. Este efecto se obtiene mediante la unión del anillo betalactamico a unas enzimas bacterianas (transpeptidasas) localizadas en la membrana celular. Estas enzimas se denominan **PBP** (del inglés "penicillin binding protein) o **Proteínas fijadoras de Penicilina**, y son el sitio blanco de acción para las penicilinas y para todos los antibióticos betalactámicos incluyendo las cefalosporinas. La acción de las PBP es la transpeptidación de los puentes peptídicos que unen las cadenas de N-acetilglucosamina y ac. N-acetilmurámico del peptidoglicano (Fig. 9). Son antibióticos bactericidas y su efecto final es el resultado de tres factores:
a. la inhibición de la síntesis de la pared,

b. la activación de enzimas bacterianas autolíticas capaces de destruir la pared bacteriana ya sintetizada,

c. la acción del medio externo a la célula bacteriana sobre una célula con su pared bacteriana alterada por los dos mecanismos anteriores (5, 8, 9, 34).

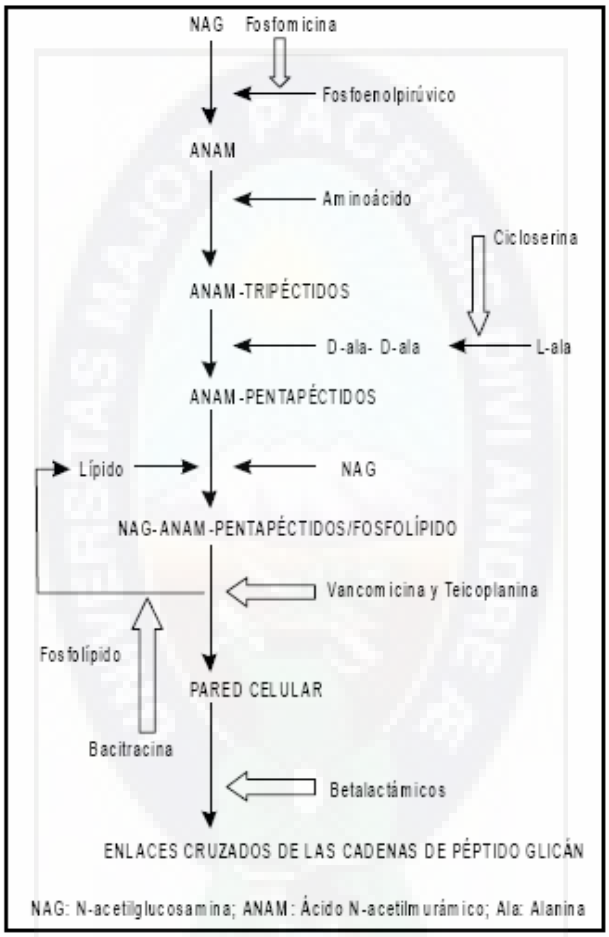


Fig. 9. Sitio de acción de los beta lactamicos, en la sintesis del peptidoglicano.

Penicilinas penicilinasa resistentes: (Meticilina, Oxacilina, Nafcilina, Cloxacilina y Dicloxacilina). Después de la aparición de las penicilinas naturales en el tratamiento de infecciones estafilocóccicas, la aparición de estafilococos productores de betalactamasas disminuyeron la efectividad la penicilina G, esta situación promovió el desarrollo de investigaciones que llevaron al desarrollo de penicilinas semisintéticas

penicilinasa resistentes. Este grupo de penicilinas poseen una cadena lateral acilica que inhibe la acción de la penicilinasa y por consiguiente previniesen la apertura del anillo betalactámico.

La meticilina (Fig. 10) fue la primera penicilina semisintética penicilinasa resistente que se introdujo para uso clínico, por vía parenteral. Este fármaco fue altamente fue altamente eficaz contra infecciones estafilocóccicas, pero se asoció a la ocurrencia de nefritis intersticial y su uso fue descontinuado (8, 9, 18, 27, 29, 34).

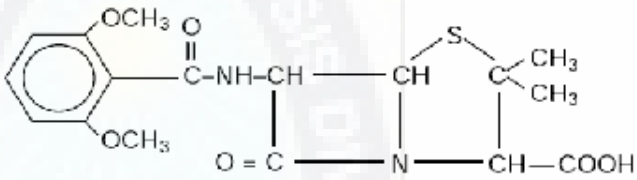


Fig. 10. La meticilina fue el primer betalactamico resistente a betalactamasa generado sinteticamente.

Posteriormente aparecieron la Oxacilina (Fig. 11a) y la Nafcilina (Fig. 11b) para uso parenteral, y dos drogas para uso oral: La Cloxacilina y la Dicloxacilina (Fig. 11c). La Nafcilina y la Oxacilina reemplazaron exitosamente a la meticilina, ya que ambas drogas tienen una alta unión a proteínas (90% y 94%) y son excretadas por el hígado. Dosis de 2 g cada 4 a 6 horas son usualmente recomendadas para el tratamiento de infecciones estafilocócicas serias (8, 9, 18, 27, 29, 34).

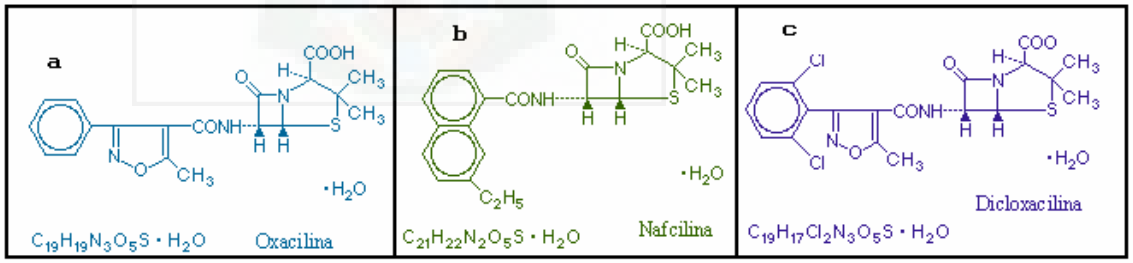


Fig. 11. Una vez que se observaron los efectos adversos ocacionados por la meticilina se desarrollaron otros farmacos como son: a) oxacilina; b) la nafcilina y c) la dicloxacilina. Los cuales son menos toxicos que la meticilina.

La cloxacilina y dicloxacilina son bien absorbidas por vía oral. En general, la dosis recomendada es de 250 mg a 1 g cuatro veces al día, dependiendo del tipo de infección que va a ser tratada. Estas penicilinas son primariamente indicadas para el tratamiento de infecciones moderadas que involucren la piel y tejidos blandos (8, 9, 18, 27, 29, 34).

Lo malo es que con el tiempo surgieron estafilococos resistentes a estas penicilinas penicilinasas resistentes. Estas bacterias son llamadas estafilococos meticilino resistentes. Esta resistencia está basada en la producción de nuevas proteínas ligadoras de penicilinas que tienen afinidad disminuida por estas penicilinas. Estos estafilococos meticilino resistentes se han tratado empíricamente con Vancomicina (8, 9, 18, 27, 29, 34).

7.2 Evolución histórica de la resistencia a los betalactámicos.

S. aureus fue el primer microorganismo en poner de manifiesta la resistencia a los antimicrobianos y ser capaz de desarrollar múltiples mecanismos intrínsecos o adquiridos, que le han conferido resistencia a diferentes antimicrobianos empleados en el tratamiento de esta microorganismo (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

Pocos años después de la introducción de la penicilina (1942), aparecieron la primeras cepas de S. aureus resistentes a la misma, mediante la producción de Betalactamasas. Aunque inicialmente se presentaron de forma esporádica en el ámbito nosocomial, en 1946 ya representaba el 60% de S. aureus aislados en los hospitales del Reino Unido y pocos años después se habían extendido ampliamente en la comunidad (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

La introducción en la terapéutica de otros antiestafilococicos como la estreptomicina, tetraciclina, sulfamidas, cloramfenicol y eritromicina se

siguió también de la aparición de de cepas de S. aureus resistentes a estos fármacos, además de la penicilina. Este patrón de resistencia era frecuentemente en los hospitales a finales de los años 50, lo que dificulto de nuevo el tratamiento de las infecciones estafilococicas (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

Pronto surgiría la meticilina (1959), que fue seguida de un auténtico caudal de penicilinas semisintéticas estables a las betalactamasas estafilocócicas (como la propia meticilina, nafcilina, penicilinas isoxazólicas), otras, orales y similares a la penicilina V (feneticilina, propicilina, fenbenicilina), y otras, en fin, con amplio espectro de actividad (ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, azlocilina, mezlocilina, ticarcilina, mecilinam, piperacilina), supuso un nuevo avance en el tratamiento de las infecciones estafilococicas. Sin embargo Jevons y Knox comunicaros poco después el aislamiento en el Reino Unido de la primeras cepas de S. aureus resistente a meticilina (SARM). Estas cepas que eran resistentes solo a antibióticos betalactamicos, aparecieron en forma esporádica llegando a ocasionar el primer brote epidémico de infección nosocomial en el Reino Unido (Stewart 1963). Posteriormente, a finales de los sesentas aparecieron en algunos países de Europa, en Australia y EEUU, otras cepas que también eran resistentes a otros antibióticos (Sulfamidas, tetraciclinas, cloramfenicol, eritromicina y estreptomicina). En los años venideros estas cepas se diseminaron por todo el mundo (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

7.3 Resistencia mediada por betalactamasas.

Las betalactamasas son enzimas producidas por bacterias que inactivan los betalactámicos al hidrolizar el anillo betalactámico de los mismos. La mayoría de betalactamasas inactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antibióticos (8, 9, 18, 34).

La mayoría de bacterias grampositivas secretan sus betalactamasas de forma que los agentes antimicrobianos betalactámicos son inactivados extracelularmente, en el medio que las rodea. En contraste, las betalactamasas de las bacterias gramnegativas permanecen dentro de la célula e inactivan los betalactámicos en el espacio periplásmico, esto es, en el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

Los genes que codifican a las betalactamasas pueden ubicarse en el cromosoma bacteriano, en los plásmidos o en los elementos de transposición. Por ejemplo:

• El gene de betalactamasa que media en la resistencia del *Staphylococcus aureus* a la penicilina está típicamente ubicado en un plásmido; una sobre expresión de esta es responsable de la resistencia Bordeline a la meticilina.

• El gene de betalactamasa que media en la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a la ampicilina y ticarcilina está ubicado en un cromosoma.

• Los plásmidos y elementos de transposición refuerzan la diseminación de genes de betalactamasa entre una variedad de especies bacterianas (8, 9, 18, 22, 27, 33, 34).

7.4 Resistencia a la meticilina.

La oxacilina y la meticilina son penicilinas semisintéticas que son estables a la betalactamasa estafilocócica gracias a la ubicación estratégica de ciertas cadenas laterales en la molécula. Estos antibióticos fueron desarrollados específicamente para el tratamiento de infecciones causadas por *S aureus* productores de betalactamasa (8, 9, 27, 28, 33).

Sin embargo, la resistencia a antibióticos del tipo meticilina pronto apareció por la emergencia del gene *mecA.* Inicialmente, los primeros aislamientos se denominaron *S. aureus* resistente a la meticilina o MRSA, estas se denominan más apropiadamente *S. aureus* resistente a la oxacilina u ORSA puesto que es la oxacilina el antibiótico que generalmente se usa en las pruebas de laboratorio. Los ORSA se consideran resistentes a todas las penicilinas penicilinasa estables como oxacilina, meticilina, nafcilina, cloxacilina, y dicloxacilina. Existen cuatro clases genéticas del complejo del gen mecA (A-D). En *S. aureus* solo se han encontrado la clase A y B; la C se encuentra en *S. haemolyticus* y la D en *S. hominis*. Siendo la clase original la clase A (5, 6, 27).

El gen *mecA*, que posee una naturaleza cromosomica, el cual es responsable de la síntesis de una proteína de unión a penicilina (PBP); el cual se encuentra en un elemento móvil grande conocidos como cassete cromosomal estafilococico *mec* (Staphylococal cassette chromosome *mec* SCC*mec*), y cuenta con dos genes reguladores: el gen *mecR1* o gen regulador de la señal de transducción del gen *mecA* que codifica la proteína MecR1 y el gen *mecI*, que codifica la proteína represora MecI de la transcripción del gen mecA (Fig 12). La transcripción del gen mecA se produce cuando el betalactamico se une a su dominio extracelular de unión a penicilina y activa su dominio citoplasmático en forma de proteasa, por rompimiento auto-catalítico. Esta proteasa rompe la proteína codificada por el gen *mecR1*, el cual bloquea el sitio operador de mecA, liberando la represión de la transcripción. De esta manera queda libre el operador de mecA siendo posible la expresión de PBP (5, 6, 8, 9, 27, 28, 33).

El gen mecA codifica para una PBP de 78 kDa, llamada PBP2a; esta es una transpeptidasa que cataliza la formación de puentes cruzados en el peptidoglicano de la pared bacteriana; presenta baja afinidad para la meticilina y todos los antibióticos β-lactamicos que se han desarrollado, incluyendo las isoxazoil penicilinas (oxacilina). La PBP2a continúa sintetizando

peptidoglicano para la pared celular aun cuando las PBP normales estén inhibidas por los antibióticos (6).

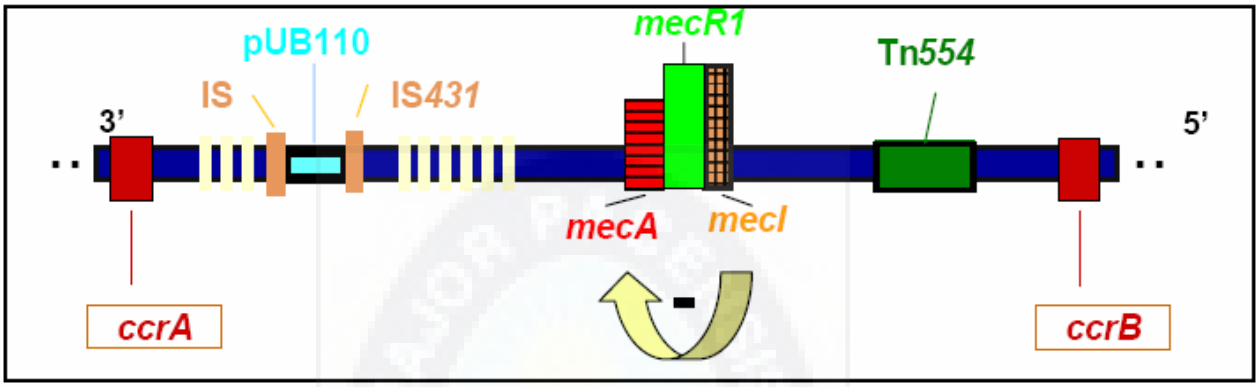


Fig 12. Representación de un fragmento del DNA cromosómico de SARM, con los siguientes elementos: región reguladora del gen mecA compuesta por los genes mecI y mecR1, plásmidos (pUB110), secuencias de inserción (IS431), y transposones (Tn554) y genes cromosómicos de las recombinasas A y B (ccrA ccrB).

Existen 5 diferentes cassetes SCCmec, tipo I-V. Se ha evaluado la estructura completa de los diferentes tipos, las principales características así como el lugar y año de aislamiento se encuentran en la tabla 2.

Tabla 2 Características de los diferentes tipos del cassette cromosomal SCCmec.

Tipo	PM kb	Clase de *mec*	Lugar de aislamiento	Año de aislamiento
Tipo I	34	$B^{\Delta-}$	Reino Unido de GB	1961
Tipo II	52	A	Japón	1982
Tipo III	66	A	Nueva Zelanda	1985
Tipo IV	20-24	$B^{\Delta-}$	EE.UU.	2002
Tipo V	28	$C^{\Delta-}$	Australia	2004

$^{\Delta}$ Deleción en 3` del gen *mecR1*

$^{-}$ Ausencia del gen *mecI*

7.5 Resistencia a otros antimicrobianos.

La resistencia a meticilina se combina a menudo con resistencia a otros grupos de antibióticos como amino glucósidos, sulfamidas, trimetoprim, tetraciclinas y quinolonas. Estas resistencias están mediadas por genes que pueden ser cromosomales y plasmidicos que las cepas de Staphylococcus aureus logro adquirir, los cuales se muestran en la tabla 2 (5, 8, 9, 27, 28, 33).

Tabla 3 Genes que confieren resistencias a S. aureus.

Antibiótico	Genes de Resistencia	Producto del gen	Mecanismo de resistencia	Localización
PENICILINA	*blaZ.*	β-lastamasa	Hidrólisis enzimático del núcleo β-lactamico	Plásmido; Tn552
β-LACTAMICOS	*mecA.*	PBP2a	Baja afinidad al antibiótico.	Cromosomal, por el cassete SSCmec; Tn4291
AMINOGLUCOSIDO	*aacA-aph, aadA, aadD, aphA, aphC, spc, strA.*	Acetiltransferasa fosfotransferasa	Modificación por acetilacion por acetiltransferasas, y adenilación por adeniltransferasas también alteración ribosomal de las fosfotransferasas.	Cromosomal, plásmidos; Tn4001, Tn5404, Tn5405.
MACROLIDOS LINCOSAMINAS	*ermA, ermB, emrC.*	Metilasa	Metilacion del rRNA 23S	Plásmidos, Tn554
MACROLIDOS ESTREPTOGRAMINAS	*msrA, vha, vat, vatB.*	Acarreadores ABC, Acetiltransferasa	Bomba de expulsión, modificación por acetilacion.	Plásmidos
TETRACICLINAS	*tetK, tetL, tetM*	Sistemas clase K, L, M.	Bombas de expulsión protección ribosomal	Plásmido, Tn916
RIFAMPICINA	*rif*	RNA polimerasa	Mutación en la subunidad β de la RNA polimerasa	Cromosomal
ACIDO FUSIDICO	*fusA, fusB*	Factor de elongación G	Alteración del factor de elongación G, disminución de la permeabilidad.	Plásmidos
QUINOLONAS	*par* *gyrA, gyrB*	Componentes ParC de la topoismerasa IV. Componentes GyrA o GyrB de la Girasa.	Mutación de la subunidad A de la de la Girasa y la Topoisomerasa IV.	Cromosomal
TRIMETOPRIM	*dfrA*	Dihidrofolato reductasa (DHFR)	Afinidad reducida de la DHFR	Cromosomal

Tabla 3 Genes que confieren resistencias a S. aureus. (continuación)

SULFAMETOXAZOL	*sulA*	Dehidropteroato sintetasa	Sobreproducción de acido p-aminobenzoico	Cromosomal, Tn4003
GLICOPEPTIDOS	*van*	Peptidoglicano alterado	Se atrapa la vancomicina en la	Cromosomal,

		D-Ala-D-Lac	pared celular. Síntesis de un dipéptido que reduce la afinidad de la vancomicina.	plásmido, Tn1546.
CLORANFENICOL	*cat*	rRNA 50S	Modificación por acetiltransferasa de rRNA 50S	Plásmido.
FOSFOMICINA	*fosB*	Glutation-S-transferasa	Modificación en la síntesis de N-acetil muramico	Plásmido.

Resistencia a Aminoglucósidos: Habitualmente los estafilococos son sensibles a aminoglucosidos, y suelen emplearse junto con una Cefalosporina, en tratamiento de casos profundos. Pero en la actualidad se observo que estas bacterias pueden desarrollar resistencia a los aminoglucosidos por tres mecanismos:

- Modificación estructural de las proteínas diana ribosómicas.
- Alteración de la permeabilidad a los aminoglucosidos.
- Modificación enzimática del antibiótico (5, 8, 9, 28).

Resistencia a Cloranfenicol: El cloranfenicol es un antibiótico bacteriostático que inhibe la transpeptidacion en la síntesis proteica, al unirse a la subunidad 50S del ribosoma. La resistencia a este antibiótico es debido a una modificación enzimática del cloranfenicol por una acetiltransferasa, mediada por Plásmidos (5, 8, 9, 28).

Resistencia a Quinolonas: El incremento de la aparición de SARM resistente a quinolonas ha sido espectacular, las quinolonas particularmente la ciprofloxacina, se sugirieron como una alternativa en el tratamiento de las infecciones y colonizaciones por SARM, sin embargo la rápida aparición de resistencia limita su uso para este fin. Blumberg y cols describen como después de un año de uso de la ciprofloxacina para el tratamiento de infecciones o colonizaciones por SARM, pasaron de 0 a 79% de cepas con alto nivel de resistencia. En el mismo periodo de tiempo, en las cepas de S. aureus sensibles a

la meticilina, en un 13% se desarrollo resistencia a la ciprofloxacina. La resistencia a este antibiótico esta mediada por dos mecanismos:

- Alteración de la diana debido a mutaciones cromosomicas.
- Alteración de la entrada del antibiótico (5, 8, 9, 28).

Resistencia a Fosfomicina y acido fusidico: La fosfomicina es un antibiótico de amplio espectro que inhibe la síntesis de la pared celular. La resistencia es debida a la inactivación enzimática del antibiótico, mediada por Plásmidos. El acido fusidico actúa inhibiendo la síntesis de proteínas al modificar el factor de elongación la resistencia puede ser de dos tipo una cromosomita que altera el sitio diana; y la segunda que es plasmidica y disminuye la permeabilidad al antibiótico (5, 8, 9, 28).

Resistencia a glucopeptidos (Vancomicina y teicoplanina). La vancomicina glucopeptido propiamente dicho, y la teicoplanina antibiótico lipoglucopeptido, poseen una excelente actividad frente a S. aureus. Estos inhiben la síntesis de la pared celular. La resistencia es ocasionada por una alteración de la permeabilidad de la pared bacteriana al antibiótico. En la actualidad se conocen solo cepas de resistencia intermedia a la vancomicina (VISA) y solo un caso de resistencia (VRSA) en EEUU (5, 8, 9, 28).

8. INFECCIONES POR S. aureus ASPECTOS CLINICOS (Tabla 3).

8.1 Síndromes clínicos.

S. aureus puede formar parte de la flora normal de las personas sanas y se halla en la mucosa nasal del 20-40 % (portadores nasales) y en la piel del 10-20 %, especialmente en las manos. Se ha observado que, cuando los portadores sufren intervenciones quirúrgicas, son más frecuentes los casos de sepsis. Pero, además, interviene en la mayoría de infecciones y puede actuar por acción directa en relación con su capacidad invasiva o por mecanismo indirecto, por sus exotoxinas. En el primer caso produce lesiones supuradas y

necróticas, cuyo grado de invasión depende de la combinación de toxinas y fermentos que elabora, en relación con el estado del huésped. En el segundo caso es la causa de procesos inflamatorios en el tubo digestivo (enterotoxinas) o en la piel (toxina exfoliativa) (4, 5, 7, 16, 17, 21, 22, 24, 27, 30, 34, 37).

Tabla 4. Enfermedades causadas por Staphylococcus aureus

Infecciones de piel y partes blandas.

1. Foliculitis.
2. Forúnculo, ántrax.
3. Celulitis.
4. Impétigo.
5. Mastitis.
6. Infecciones de incisiones quirúrgicas.

Infecciones musculoesqueléticas.

7. Artritis séptica.
8. Osteomielitis.
9. Piomiositis.

Infecciones de vías respiratorias.

10. Neumonía por ventiladores o nosocomial.
11. Émbolos pulmonares.
12. Neumonía posvirica.
13. Empiema.

Bacteremia y sus complicaciones.

14. Sepsis y choque toxico.
15. Focos metastásicos de infección.
16. Endocarditis infecciosa.

Endocarditis infecciosa.

17. Por drogas inyectables.
18. En válvulas originales.
19. En prótesis valvulares.
20. Nosocomial.

Infecciones en dispositivos.

21. Por catéteres intravasculares.

22. En prótesis articulares.
Tabla 4. Enfermedades causadas por Staphylococcus aureus (Continuación)
Enfermedades mediadas por toxinas 23. Síndrome de choque toxico. 24. Intoxicación alimentaria. 25. Síndrome exfoliativo estafilococico.

3.1.1 Acción directa

Infecciones localizadas en la piel y mucosas. Las infecciones estafilococicas piogenicas localizadas incluyen la foliculitis, los forúnculos, el carbunco estafilococico, el impétigo y las infecciones estafilococicas de las heridas. La más benigna es la foliculitis, proceso inflamatorio piógeno centrado alrededor de un folículo piloso; puede dar lugar a furúnculos (Fig. 13), cuando se afecta, además, el tejido celular subcutáneo. Otro proceso ocasionado por este microorganismo es el carbunco, el cual se produce por la fusión de varios furúnculos y se alcanzan tejidos más profundos; localizándose generalmente en la parte posterior del cuello y espalda. También puede producir infecciones de las heridas y quemaduras, abscesos subcutáneos y submucosos, que generalmente se producen después de una intervención quirúrgica. En los niños produce el impétigo contagioso cuando afecta las capas superficiales de la piel de la cara (vesículas que se transforman en costras), que puede presentarse en forma epidémica. Produce la mayoría de infecciones supurados superficiales, sobre todo de la piel, que constituyen lo puerta de entrada del estafilococo en el organismo (5, 7, 17, 27, 37).

Fig 13. Furúnculo de labio superior, es la manifestacion mas clasica de una infección por S. aureus.

Infecciones metastasícas de localización visceral. Los estafilococos, ya libres o en el interior de leucocitos polimorfo- nucleares, pueden difundir por vía linfática o hemática y colonizar tejidos y órganos diversos, donde producen lesiones piógenas y abscesos: artritis, neumonía y pleuritis, osteomielitis en niños y adultos jóvenes, endocarditis frecuentes en drogadictos. Son de alta gravedad la neumonía o bronconeumonía estafilocócicas, que se presentan muchas veces como gripe, que posteriormente se complica (7, 17, 27, 37).

Procesos generalizados. Van precedidos por la formación del trombo o coágulo intravenoso, a partir del cual el microorganismo se replica e invade la sangre (septicemia). Se pueden presentar formas hiperagudas rápidamente mortales (tromboflebitis consecutiva a furúnculos del labio superior) y formas agudas menos graves, subagudas y aún crónicas. En los formas subagudas a consecuencia de la producción de fibrínolisina se pueden formar microémbolos y producirse metástasis supuradas en diversos órganos (septicopiemias) (7, 17, 27, 37).

3.1.2 Acción fundamentalmente exotóxica

Enterotoxina. Puede producir dos tipos de cuadros:

Cuadros de intoxicación alimentaria. El consumo de alimen-tos contaminados por estafilococos que han elaborado entero-toxina, en especial productos de pastelería que contienen crema, puede producir un cuadro de gastroenteritis, que se caracteriza por su corto período de incubación (1-6 horas), ausencia de fiebre, predominio de náuseas y vómitos, seguido de diarrea de 1 ó 2 días de duración, e ineficacia del tratamiento por antibióticos. Se pueden presentar rara vez cuadros graves e incluso mortales en enfermos de edad avanzada. Los manipuladores de alimentos que presentan lesiones de la piel o portadores de *S. aureus,* pueden contaminar los alimentos y, si las condiciones de conservación no son las adecuadas, se pueden dar origen a brotes de intoxicación alimentaria que se presentan fundamentalmente en verano (7, 17, 27, 37).

Cuadros de enterocolitis aguda. En el curso del tratamiento con antibióticos de amplio espectro que ocasionan la destrucción de lo flora normal del tubo digestivo, en niños afectos de procesos diversos o en el postoperatorio de intervenciones abdominales, se pueden presentar cuadros severos de enterocolitis aguda, que ocasionalmente pueden ser producidos por una bacteria anaerobia del género *Clostridium (C. difficile)*, la cual aprovecha las condiciones del huésped (7, 17, 26, 27, 37).

Toxina exfoliativa. Síndrome de Piel escaldada. En los niños se puede presentar el síndrome *de la piel escaldada* caracterizado por lo aparición de lesiones en la piel, que en su grado más intenso producen una exfoliación cutánea generalizada, necrosis epidérmica tóxica, conocida con el nombre de Enfermedad de Lyell en niños mayores y Enfermedad de Ritter en lactantes (7, 17, 26, 27, 35, 37).

Síndrome del shock tóxico. Recientemente se ha descrito un nuevo cuadro, *el síndrome del shock tóxico,* caracterizado por fiebre, eritrodermia generalizada con descamación de las manos y los pies, edema, hipotensión con alteraciones hepáticas y fallo renal que presenta una letalidad del 5-10 %. Se ha observado durante la menstruación en mujeres jóvenes que en su mayoría usan tampones durante largo tiempo y también en niños mayores. De las mucosas se han aislado cepas de *S. aureus* pertenecientes al fagogrupo 1, productores de una nueva toxina (exotoxina pirogénica Cl. enterotoxina F). Son glicoproteinas de bajo peso molecular con propiedades pirógenas, enterotóxicas y estimulantes del shock, que no se sabe si se trata de una misma sustancia (1, 7, 17, 26, 27, 37).

9. INFECCIONES POR S. aureus EPIDEMOLOGIA.

Staphylococcus aureus es ubicuo y reside en la piel fundamentalmente. El recién nacido se coloniza al poco tiempo de nacer a nivel cutáneo, umbilical y perineal. Posteriormente, los niños y hasta 25% de los adultos pueden transformarse en portadores, siendo su principal reservorio el vestíbulo nasal anterior. Algunos grupos de personas son más propensos a estar colonizados, como el personal de salud. Se ha observado hasta un 50% del personal medico es portador nasal en los hospitales. Otros grupos son los diabéticos insulina dependientes, pacientes en hemodiálisis crónica, personas con enfermedades dermatológicas y los drogadictos endovenosos (17, 27, 37).

La aparición de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* y la dispersión general de estas cepas por los hospitales de todo el mundo, ha supuesto uno de los retos terapéuticos y de control de infección más importantes de los últimos años (17, 26, 27, 37).

La incidencia de infecciones nosocomiales por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se ha ido incrementando desde su aparición en la mayoría de los países. Durante los años 80 las cepas de SARM se extendieron por

hospitales de Europa, Australia y Estados Unidos. En Europa se experimentó un notable ascenso desde <1% en 1980 hasta el 30% en 1991, con una distribución desigual según los países: mientras Holanda o Dinamarca presentaron una baja prevalencia (6%), los países del sur de Europa como Grecia, Francia o España presentaron la prevalencia más alta (30%). En los Estados Unidos, según datos del National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) las infecciones nosocomiales causadas por este microorganismo superan el 40% del total de infecciones nosocomiales causadas por *S. aureus* (4, 17, 26, 27, 37).

10. METODOS DE DIAGNOSTICO DE S. aureus.

Puesto que este microorganismo en la actualidad ha cobrado gran importancia por los daños que ocasiona en la salud, el disponer me métodos rápidos y fiables constituye una labor importante, razón por la cual en la actualidad se han desarrollado métodos rápidos de alta especificidad, en particular para SARM. (19, 26, 27, 29)

10.1 Cultivo en medios

Son bacterias poco exigentes que crecen en la mayoría de los medios de cultivo. Generalmente se siembra en agar sangre donde las colonias se ven grandes (2-3 mm de diámetro), de color dorado (aureus) debido a la presencia de carotenos y usualmente rodeadas de un halo de alfa hemólisis. Se incuba a 35-37^{o}C en atmósfera ambiental por 18 a 24 horas. (26, 27, 29)

10.2 Prueba de aglutinación en látex.

En un análisis de 15 cepas de *S. aureus* *mecA* positivo y 48 *mecA* negativo; aislado de animales; se demostró que este método presentaba 100% de sensibilidad y especificidad en contraste con el método de cultivo en agar oxacilina confirmado por MIC. (Lee Jhon). (19, 27)

III. MATERIALES Y METODOS

6. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable en estudio	Definición operacional	Medición	Relación
S. aureus	Coco Gram. positivo	Porcentaje	Independiente
Edad	Tiempo de vida medido en años.	Años	Independiente
Genero	Grupo sexual al que pertenece el individuo en estudio.	Masculino o Femenino	Independiente
Tipo de muestra	Lugar de procedencia de la muestra en estudio	Porcentaje	Independiente
Relación entre edad e infección por S. aureus	Numero de casos de casos en función a la edad del individuo de estudio.	Correlación de Spearman y χ^2.	
Relación entre genero e infección por S. aureus	Numero de casos de casos en función al género del individuo de estudio.	Correlación de Spearman y χ^2.	
Relación entre tipo de muestra e infección por S. aureus	Numero de casos de casos en función al tipo de muestra tomada del individuo de estudio.	Correlación de Spearman y χ^2.	

7. ÁREA DE ESTUDIO.

La preparación de los medios de cultivo empleados en el presente estudio fueron preparados en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, debido a que los laboratorios de Hospital de Niño no contaban con autoclave para el preparado de estos.

El procesado de las muestra fue realizado en el Laboratorio de Patología de Hospital de Niño; el cual contaba con un mesón en el cual se encontraba conectado un mechero para la realización de este trabajo. Además contaba con una estufa atemperada a 37ºC para el cultivo de las placas Petri.

8. LUGAR DE ESTUDIO.

El estudio se realizó en el Hospital del Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uria” de la ciudad de La Paz. Ubicado en la Calle Mayor Zubieta Nº 100 Miraflores. El cual cuenta con 11 unidades que incluyen los servicios de: Neumología, Neonatología, Gastroenterología, Oncohematología, Traumatología, Pediatría General, Cirugía Blanda y Quemados, Unidad de Terapia Intensiva, Infectología, Neurocirugía y Cirugía General.

9. PERIODO DE ESTUDIO.

El periodo de estudio constituido por tres meses, los cuales están comprendidos desde el mes de enero hasta el mes de marzo del año 2007.

10. TIPO DE ESTUDIO.

En el análisis estadístico se realizo un estudio prospectivo observacional, donde se realizo el aislamiento en medios selectivos y su posterior identificación del agente patógeno.

11. POBLACION EN ESTUDIO.

La población esta constituida por todos los niños menores de 5 años internados en el Hospital del Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uria”; que durante el tiempo de estudio presentaron procesos infecciosos ocasionados por S. aureus.

12. METODO DE RECOLECCION DE DATOS.

El método empleado para la recolección de datos fue una encuesta (Anexo D); en las cuáles se tomo en cuenta las variables que están siendo sometidas a estudio. Esta encuesta fue diseñada mediante el método estadístico “MATRIZ MAPIC” desarrollada por el Ing. Luís Villarroel (Anexo A), luego los resultados de estas encuestas alimentaron la base de datos en el programa estadístico SPSS 11.5 para Windows (Anexo B) (23, 38). Los resultados obtenidos fueron procesados estadísticamente aplicando test no-parametricos como son Correlación de Spearman y χ^2.

13. TOMA DE MUESTRAS.

Las muestras, en la mayoría de los casos, fueron tomadas por el personal de planta (Médicos de planta y Residentes) del Hospital del Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uria”, posteriormente estas fueron entregadas al laboratorio del centro hospitatalario para ser procesadas; para el caso de los pacientes internados en la Unidad de Terapia Intensiva la toma de muestra se realizo en función al tipo de proceso infeccioso que cursaba el paciente, siendo la mas común la toma de muestra de exudado, esta se realizo con una lanceta estéril ocasionando un poro para la salida del exudado que fue tomado con una pipeta Pasteur estéril para posteriormente ser sembrado en placas de Agar Manitol Salado.

La toma de muestra para exudado nasal fue de la siguiente forma; se recostó al paciente en su cama, luego con un movimiento suave se le introdujo en la fosa nasal un hisopo estéril embebido en solución fisiológica, y se hizo rotar suavemente el hisopo; este hisopo posteriormente fue introducido en un tubo con caldo Stuart de transporte, estéril.

Para secreción conjuntival se recomendó a los médicos y enfermeras que no se realizara un aseo de los ojos del paciente de manera que se pueda tener la formación de lagañas, las cuales fueron tomadas con la ayuda de un hisopo estéril e inoculado a un tubo con caldo Stuart de transporte, estéril.

14. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Aislamiento de Staphylococcus aureus.

Para el aislamiento de *S. aureus* se utilizaron placas de Agar Manitol Salado, para evitar el desarrollo de flora acompañante y obtener un mejor aislamiento de las colonias, y fueron incubadas a 37ºC durante el periodo de 24 hrs. Se consideraron positivos aquellos cultivos en los que al menos se pudo observar desarrollo de colonias sugerentes de *S. aureus* en la placa Petri. La identificación de cada aislamiento se llevo a cabo por las características del cultivo, coloración de Gram y prueba de la coagulasa en tubo; según lo recomendado por bibliografía.

Los resultados observados fueron: presencia de cocos Gram positivos agrupados en forma de racimos de uvas en la tinción Gram; la prueba de la coagulasa para confirmar S. aureus, se realizo empleando plasma humano, el cual fue obtenido por punción venosa de personas sanas y trasvasados a viales estériles con anticoagulante de Wintrobe para obtener el plasma, donde se

observo coagulación positiva frente a control $CaCl_2$, confirmando así la formación de coagula a tras un periodo de incubación de 2 horas.

Determinación de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SARM).

Una vez confirmado el microorganismo este fue resuspendido en caldo BHI hasta igualar el tubo 0,5 de la escala de Mac Farland; y posteriormente sembrado en placas de agar Müller Hinton salado. A esta placa se añadió los discos de Oxacilina y Cefoxitina a una distancia de 2 cm; utilizando los procedimientos descrito por el Comité Nacional para Procedimientos Estandar del Laboratorio Clinico (NCCLS). Estas placas fueron incubadas a 35ºC por un periodo no menor a 24Hrs para observar el halo de inhibición.

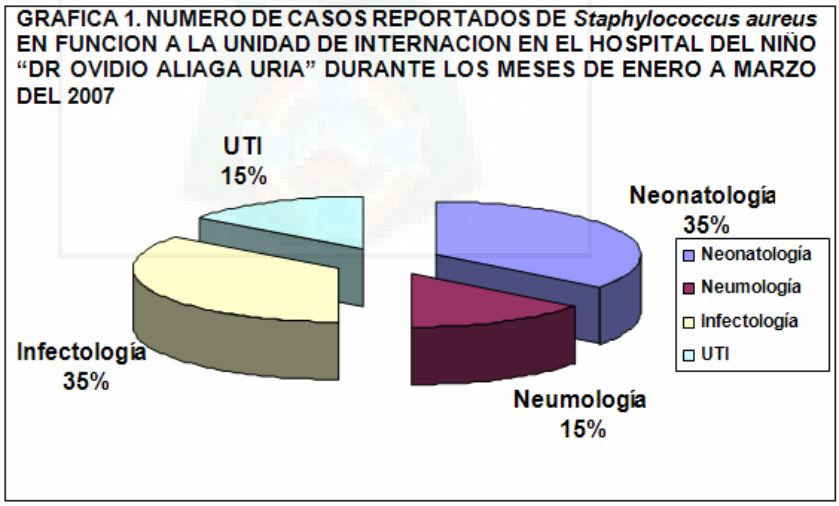
IV. RESULTADOS

15. NUMERO DE CASOS REPORTADOS DE *Staphylococcus aureus* EN FUNCION A LA UNIDAD DE INTERNACION EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007: En el presente estudio se tomaron en cuenta las unidades que presentaban mayor riesgo de contaminación; unidades en las que los pacientes internos presentaban mayor predisposición a adquirir procesos infecciosos. Por esta razón se tomaron en cuenta las unidades de: Neumología, Neonatología, Infectología y Terapia Intensiva (UTIP).

Tabla 5 Número de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en función a la unidad de internación en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Neonatología	12	35,3	35,3
	Neumología	5	14,7	14,7
	Infectología	12	35,3	35,3
	UTI	5	14,7	14,7
	Total	34	100,0	100,0

Fuente propia



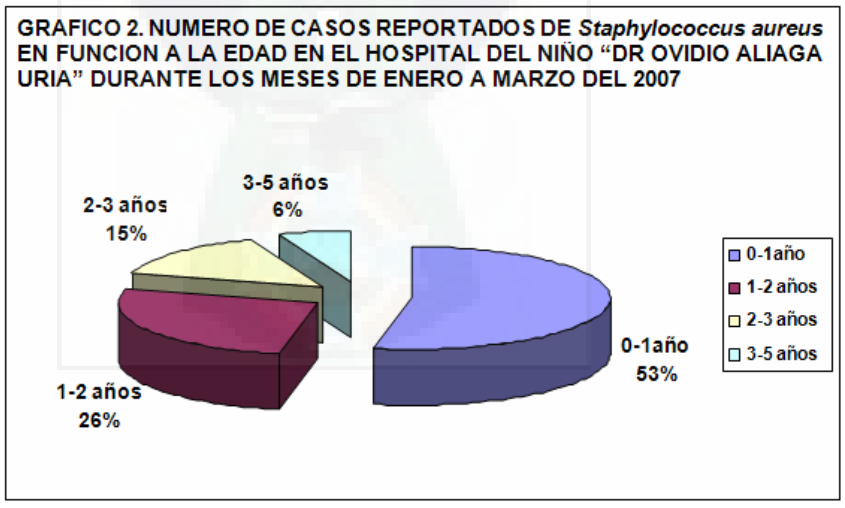
Fuente propia

16. **NUMERO DE CASOS REPORTADOS DE *Staphylococcus aureus* EN FUNCION A LA EDAD EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En el presente estudio la edad juega un rol muy importante; ya que la se observo que la mayor parte de los pacientes que presentaron procesos infecciosos por S. aureus están agrupados en los niños de menores edades, esto a causa de que están mas indefensos y con un sistema inmune que no esta completamente preparado.

Tabla 6 Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en función a la edad en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	0-1año	18	52,9	52,9
	1-2 años	9	26,5	26,5
	2-3 años	5	14,7	14,7
	3-5 años	2	5,9	5,9
	Total	34	100,0	100,0

Fuente propia



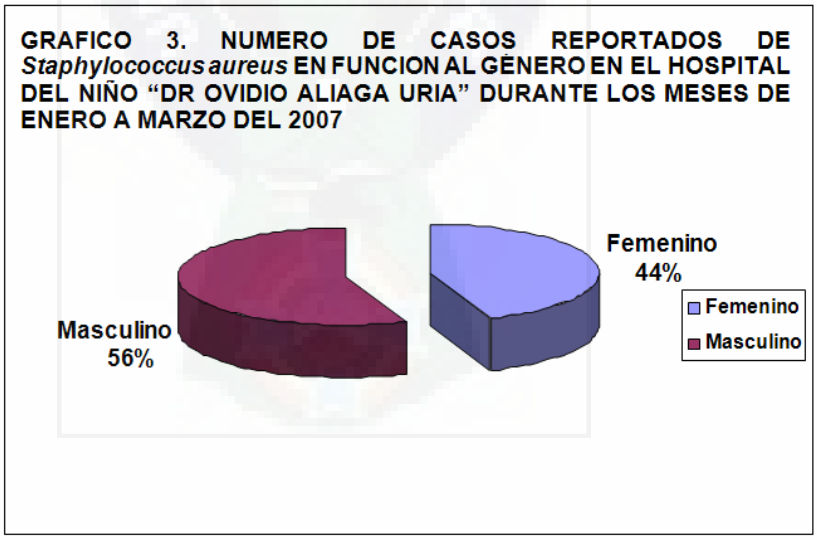
Fuente propia

17. **NUMERO DE CASOS REPORTADOS DE *Staphylococcus aureus* EN FUNCION AL GÉNERO EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En el presente estudio se observo que la mayor parte de los pacientes que presentaron procesos infecciosos correspondían al género masculino; esto debido a que la mayor parte de los pacientes en estudio eran varones.

Tabla 7 Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en función al género en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Femenino	15	44,1	44,1
	Masculino	19	55,9	55,9
	Total	34	100,0	100,0

Fuente propia



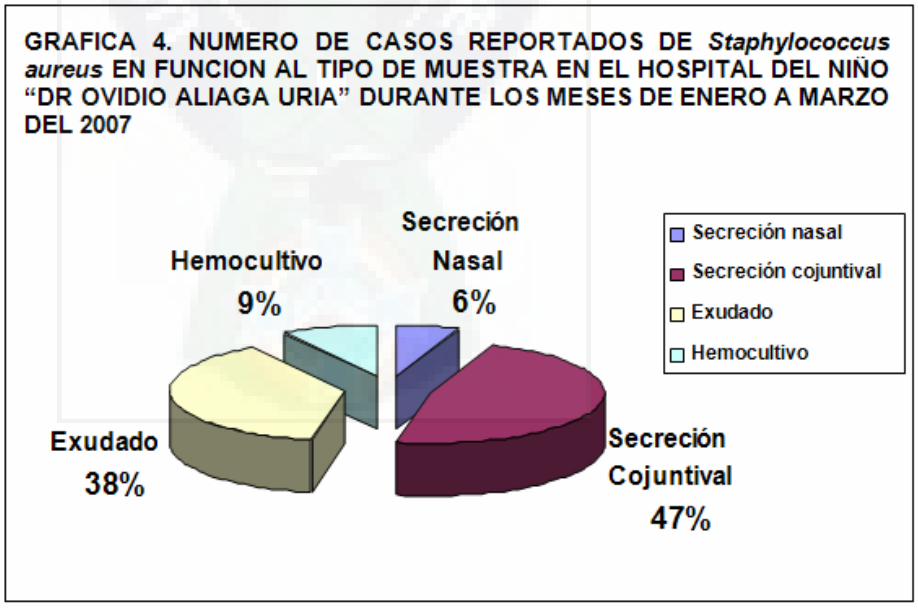
Fuente propia

18. **NUMERO DE CASOS REPORTADOS DE *Staphylococcus aureus* EN FUNCION AL TIPO DE MUESTRA EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En el presente estudio se observo que el tipo de muestra esta en estrecha relación con el tipo de procesos patológico que cursan los pacientes internados, llegando a ser mas predominante la muestra de tipo secreción conjuntival.

Tabla 8 Numero de casos reportados de *Staphylococcus aureus* en función al tipo de muestra en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Secreción nasal	2	5,9	5,9
	Secreción conjuntival	16	47,1	47,1
	Exudado	13	38,2	38,2
	Hemocultivo	3	8,8	8,8
	Total	34	100,0	100,0

Fuente propia



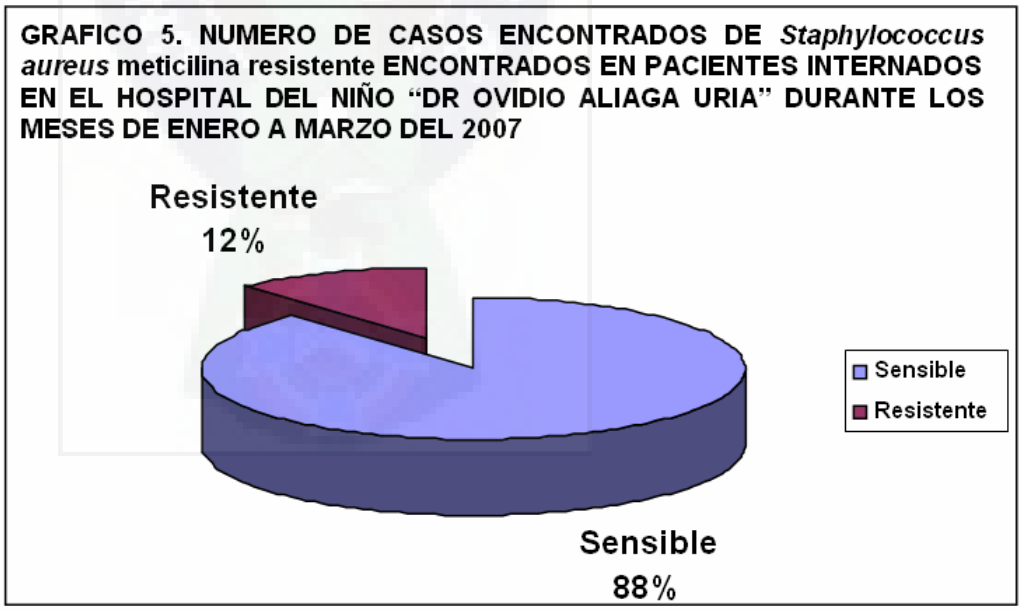
Fuente propia

19. **NUMERO DE CASOS ENCONTRADOS DE Staphylococcus aureus meticilina resistente ENCONTRADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En el presente estudio se observo que la presencia de Staphylococcus aureus meticilina resistente es una realidad, pero aun este microorganismo presenta una baja incidencia y no presenta multirresistencia.

Tabla 9 Numero de casos encontrados de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente encontrados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	Sensible	30	88,2	88,2
	Resistente	4	11,8	11,8
	Total	34	100,0	100,0

Fuente propia



Fuente propia

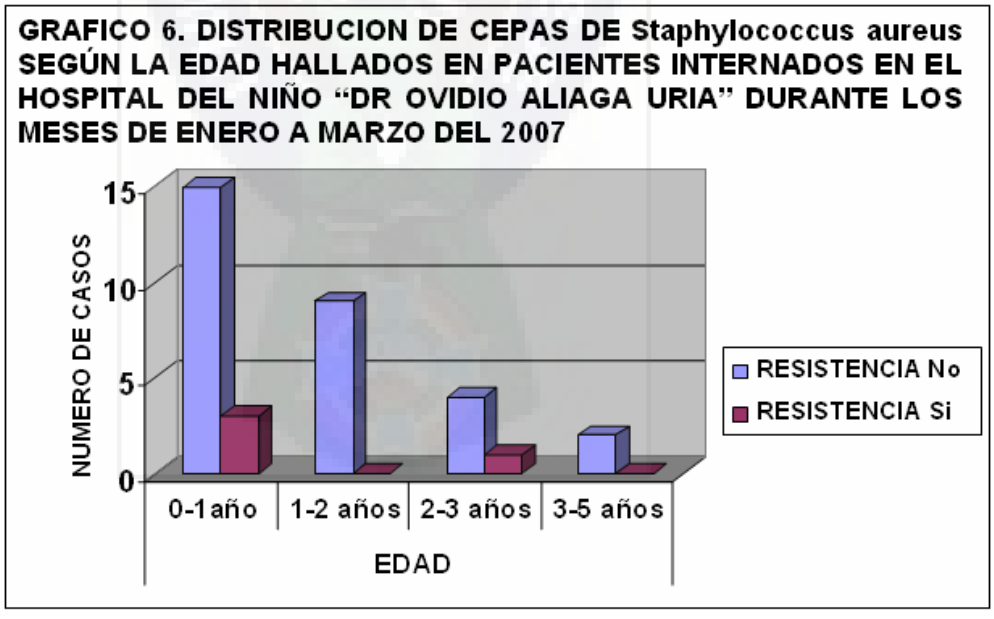
20. **DISTRIBUCION DE CEPAS DE Staphylococcus aureus SEGÚN LA EDAD; HALLADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En esta tabla se observa el estado de portador según grupos etareos. Donde el porcentaje mayor de colonización se presenta en niños cuya edad estaba comprendida hasta el primer año.

Tabla 10 Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente según la edad hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		RESISTENCIA		Total
		No	Si	
EDAD	0-1año	15	3	18
	1-2 años	9	0	9
	2-3 años	4	1	5
	3-5 años	2	0	2
Total		30	4	34

χ^2=17.059; **p**<0,05.

Fuente propia



Fuente propia

21. **RELACION EXISTENTE ENTRE LA EDAD Y LA INFECCION POR *Staphylococcus aureus*; HALLADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** Tanto para la prueba de tau-b de Kendall (τ) como para la prueba rho de Spearman (ρ) rechazan a la hipótesis nula; aceptando la correlación entre las variables; donde esta relación es inversamente proporcional por el valor negativo de estos estadísticos; mientras menor es la edad, mayor el riesgo de contraer infección por *Staphylococcus aureus*.

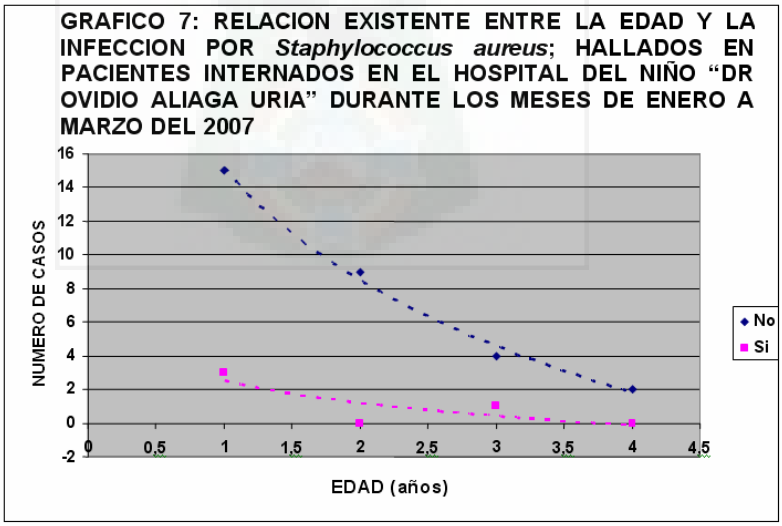
Tabla 11 Relación existente entre la edad e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

Estadístico	Variable		Resistencia
τ b de Kendall	Edad	Coeficiente de correlación	-.111
		Sig. (bilateral)	.500
		N	34
ρ de Spearman	Edad	Coeficiente de correlación	-.117
		Sig. (bilateral)	.508
		N	34

H_o = No existe correlación (p<0,05).

H_i = Existe correlación (p>0,05).

Fuente propia



Fuente propia

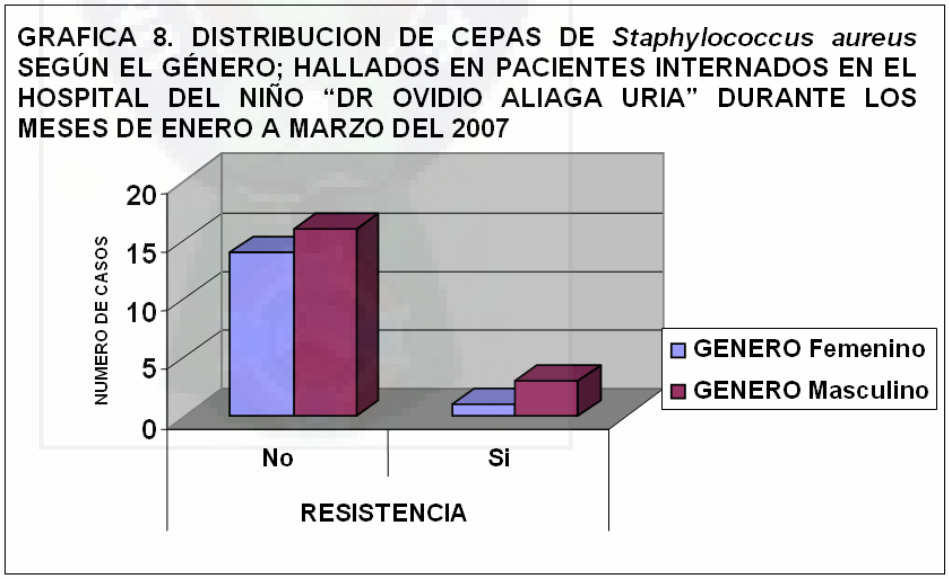
22. **DISTRIBUCION DE CEPAS DE Staphylococcus aureus SEGÚN EL GÉNERO; HALLADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En esta tabla se observa el estado de portador agrupados por género. Donde la mayor parte de los casos reportados corresponden a los niños del género masculino.

Tabla 12 Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el género; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		RESISTENCIA		Total
		No	Si	
GENERO	Femenino	14	1	15
	Masculino	16	3	19
Total		30	4	34

χ^2=0.471; **p>**0,05.

Fuente propia



Fuente propia

23. **RELACION EXISTENTE ENTRE GÉNERO Y LA INFECCION POR *Staphylococcus aureus*; HALLADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** Tanto para la prueba de tau-b de Kendall (τ) como para la prueba rho de Spearman (ρ) rechazan a la hipótesis nula; aceptando la correlación entre las variables; donde se observa que el genero masculino es mas propenso a adquirir una infección por *Staphylococcus aureus*.

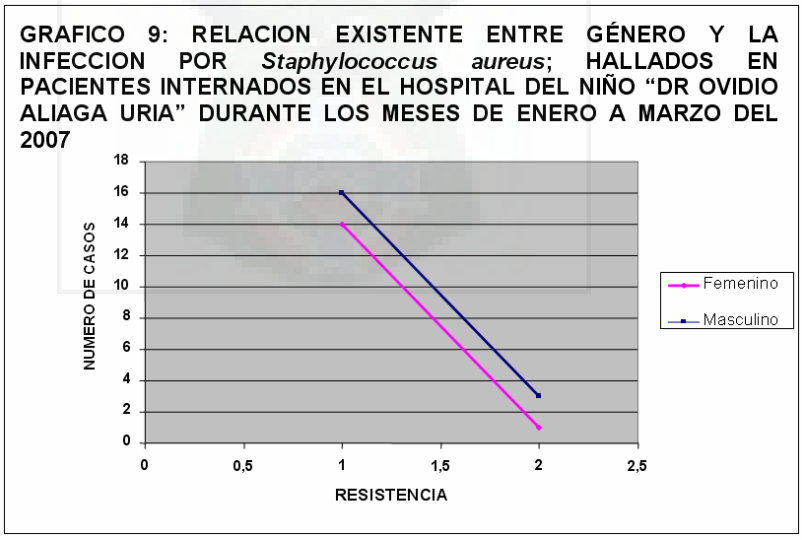
Tabla 13 Estudio de correlación entre las variables género e infección por *Staphylococcus aureus*; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

Estadístico	Variable		Resistencia
τ b de Kendall	Genero	Coeficiente de correlación	-.141
		Sig. (bilateral)	.419
		N	34
ρ de Spearman	Genero	Coeficiente de correlación	-.141
		Sig. (bilateral)	.428
		N	34

H_o = No existe correlación (p<0,05).

H_i = Existe correlación (p>0,05).

Fuente propia



Fuente propia

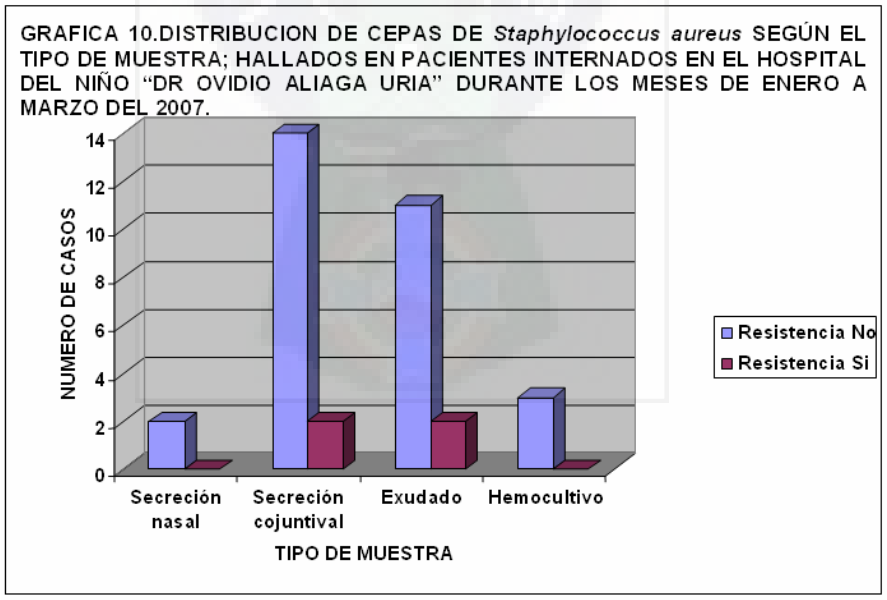
24. **DISTRIBUCION DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* SEGÚN EL TIPO DE MUESTRA; HALLADOS EN PACIENTES INTERNADOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO "DR OVIDIO ALIAGA URIA" DURANTE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2007:** En esta tabla se observa el número de aislamientos por tipo de muestras. Donde la mayor parte de los casos reportados fueron en los niños del género masculino.

Tabla 14 Distribución de cepas de *Staphylococcus aureus* según el tipo de muestra; hallados en pacientes internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo del 2007.

		Resistencia		Total
		No	Si	No
Tipo de muestra	Secreción nasal	2	0	2
	Secreción conjuntival	14	2	16
	Exudado	11	2	13
	Hemocultivo	3	0	3
Total		30	4	34

χ^2=17,529; **p**<0,05.

Fuente propia



Fuente propia

V. DISCUSION

Staphylococcus aureus se ha convertido en un patógeno nosocomial de primer orden en todo el mundo en las ultimas dos décadas; se observo que este microorganismo puede desarrollar en todo tipo de ambientes y su distribución es muy amplia tanto en los centros hospitalarios como en la comunidad, donde se encuentra colonizando la mucosa nasal predisponiendo a una infección subsecuente.

Algo que cabe destacar es que no todos los cultivos detectados por el método de difusión en disco se pueden considerar SARM; ya que existen estudios en los que se observa que este porcentaje disminuye una vez realizada la prueba de MIC y MBC; los cuales se confirman con pruebas moleculares. En este estudio no se completo la confirmación de SARM con la prueba de MIC y MBC; esto fue demostrado por estudios realizados por Trinidad Hernández, donde se observo que de 4 cepas aisladas por tamiz solo una fue demostrada como SARM; esto por el empleo de técnicas moleculares, siendo las restante BORSA, la aplicación de técnicas moleculares y el desarrollo de sondas especificas para la detección del gen *mecA* permiten obtener resultados mas fidedignos y en menores plazos para la correcta aplicación del tratamiento antimicrobiano, la desventaja del uso de este tipo de métodos es su elevado costo y baja disponibilidad razón por la cual se emplean las técnicas de selección por medios de cultivo, la prueba de difusión de disco y el MIC y MBC.

En este estudio se logra observar que las unidades en las que existió mas casos de infección por Staphylococcus aureus son las de Infectología y Neonatología con un 35,3% para cada uno (Tabla 5); lo cual contrasta a otros estudios realizados en niños menores por varios autores, donde las tasas de infección mas altas se encontraron en neonatos y pacientes con hemodiálisis (Toraño 2001) los cuales presentan un sistema inmune menos eficiente o mas deprimido y es por esta razón que son mas propensos a desarrollar la infección

por este patógeno. Además en un estudio desarrollado con anterioridad en el Hospital del Niño “Dr. Ovidio Aliaga Uria” por los doctores: Sdenka Maury Fernández, Héctor Mejía Salas y Victor Hugo Velasco el 2004; se observo que la edad era un factor determinante en el desarrollo de procesos infecciosos.

En función a la edad se observa que el grupo comprendido por menores de 1 año es el mas propenso a adquirir infección por Staphylococcus aureus mostrando un porcentaje de 53% (Tabla 6). En este grupo etario se encuentran además 3 casos de Staphylococcus aureus resistente a meticilina que se observa en la tabla 10; resultado que es estadísticamente significativo (χ^2=17.059; p<0,05). En la gráfica 7 se observa la relación inversamente proporcional entre la edad y la infección por este patógeno, diciendo así que a una menor edad de vida mayor presenta mayor posibilidad de ser infectado; obteniéndose coeficientes de correlación con valores menores a uno; los cuales son estadísticamente significativos (τ b de Kendall = -0,111 y ρ de Spearman = -0,117: p>0,05). Resultado que es corroborado por estudio hechos por otros autores como la doctora Lara en 2003 donde observo que los niños menores presentaban mayor riesgo; pero son contrapuestos por los resultados presentados por Toraño 2001 quien observo que los niños cuya edad estaba comprendida entre 4-5 años son los que presentaban mayor frecuencia de infección con respecto a otros grupos etarios menores a 5 años estudiados, presentando un porcentaje de 27,7%; y el estudio realizado en el Hospital del Niño por la doctora Sdenka Maury Fernández, et al 2004; donde más del 45% de los niños tenían edades comprendidas entre 1 mes y 5 años encontrándose que el riesgo de infección en niños menores de 5 años (63%) es mayor que a los niños mayores de 5 años (37%); el defecto de estos datos es que los grupos etarios fueron solo divididos entre niños menores a 5 años y mayores a 5 años.

En función al genero se observa que el masculino fue el mas propenso a adquirir infección por Staphylococcus aureus mostrando un porcentaje de 56% (Tabla 7). En este grupo se encuentran además 3 casos de Staphylococcus

aureus resistente a meticilina que se observa en la tabla 11; no existiendo asociación estadísticamente significativa (χ^2=0.471; p>0,05). En la tabla 13 se observa que el genero masculino es mas propenso a una infección por este patógeno; con coeficientes de correlación estadísticamente significativos (τ b de Kendall = -0,141 y ρ de Spearman = -0,141: p>0,05). En el mismo estudio en el Hospital del Niño se observo que del total de niños afectados durante las dos fases de estudio el 53% a 64% eran varones y 47% a 36% mujeres respectivamente. En contraparte en los estudios realizados por Hernández el 2005, se observó que el género femenino presentaba mayor incidencia con un 85% de caso; pero este dato es en pacientes con conjuntivitis

En función al tipo de muestra se observa que las muestras de las que se realizo mayor cantidad de aislamientos de *Staphylococcus aureus* son secreción conjuntival y exudado mostrando porcentajes de 47,1% y 38,2% respectivamente (Tabla 8). En estos dos tipos de muestra encuentran 2 casos de Staphylococcus aureus resistente a meticilina que se observa en la tabla 14; resultado que es estadísticamente significativo (χ^2=17,529; p<0,05). Resultado que es contradicho por otros autores (Toraño et.al. 2001; Honorato 2001) quienes indican que la muestra en la que existe mayor recuperación es el exudado nasal con un porcentaje mayor al 78%. Lo que sugiere realizar mejores estudios sobre este tema en esta población; además la doctora Lara 2003 en un estudio realizado en el Hospital Escuela “Oscar Danilo Rosales Argüello” de la Ciudad de León, observo que el tipo de muestra en el cual se encontró mayor presencia de Staphylococcus aureus fueron las de pus y trasudados como abscesos con un porcentaje de 58%.

VI. CONCLUSIONES

Objetivo general. Realizar la detección de microorganismos del genero *Staphylococcus aureus* en niños menores de 5 años, internados en el Hospital del niño Ovidio Aliaga Uria de la Ciudad de La Paz, durante los meses de enero a marzo del 2007.

Con los resultados obtenidos se puede evidenciar la presencia de *Staphylococcus aureus* en niños menores de 5 años internados en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" de la Ciudad de La Paz; donde se observo que algunas cepas presentaron resistencia a meticilina correspondiendo al 11,8% (Tabla 9); dato no confirmatorio para afirmar que realmente se trata de un SARM.

Objetivos específicos.

Objetivo 1. Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función a la edad.

En función a la edad se concluye que los niños menores a 1 año son mas propensos a adquirir infecciones por Staphylococcus aureus observándose un porcentaje de 53% equivalente a 18 casos para este grupo etareo (Tabla 6); de los cuales 3 presentaron resistencia a meticilina de un total de 34 casos reportados (Tabla 10).

Objetivo 2. Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función al género.

En función al género se determinó que la incidencia de *Staphylococcus aureus* estuvo presente en la mayoría de los casos en los niños pertenecientes al género masculino con un 56% equivalente a 19 casos (Tabla 7), de los cuales 3 casos del total de 34 casos reportados, presentaron resistencia a la meticilina (Tabla 12).

Objetivo 3. Determinar si la proporción de casos de infección por *Staphylococcus aureus* varia en función al tipo de muestra.

En función al tipo de muestra se observa que las muestras de las que se realizo mayor cantidad de aislamientos de Staphylococcus aureus son secreción conjuntival y exudado con porcentajes de 47,1% y 38,2% respectivamente (Tabla 8) donde se aprecio la presencia de cepas resistentes a la meticilina en ambos tipos de muestras con 2 casos cada una (Tabla 8 y Gráfica 4).

Objetivo 4. Determinar la relación existente entre edad de los niños e infección por *Staphylococcus aureus*.

Se observó una relación inversamente proporcional entre la edad y la infección por este patógeno, dato que indica que a una menor edad de vida existe una mayor posibilidad de desarrollar un proceso infeccioso, por este agente patógeno (Grafica 7).

Objetivo 5. Determinar la relación existente entre género de los niños e infección por *Staphylococcus aureus*.

En función al genero se determino que la incidencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina fue mayor en los niños varones; pero este dato no es concluyente, considerando que se observo un χ^2 con una probabilidad mayor a 0,05; lo que no da significancia al resultado.

VII. RECOMENDACIONES

Se debe realizar este tipo de vigilancias, tomando en cuenta periodos de tiempo más extenso y una población más grande para obtener datos mas significativos que puedan representar a la región y muestren un panorama mas claro acerca de la situación de resistencias en nuestro medio.

Se debe realizar estudios más profundos en esta población, ya que es el futuro de nuestro país y de alguna manera se debe evitar o disminuir procesos infecciosos ocasionados por este patógeno, ya que evitar que entren en contacto es algo difícil de lograr, puesto que este microorganismo coloniza la superficie del niño en el momento de su nacimiento presentando alta afinidad por la mucosa nasal. Afortunadamente en nuestro medio las condiciones climáticas evitan el sobredesarrollo de este tipo de microorganismos evitando que puedan llegar a diseminarse hacia la comunidad y producir brotes, como sucede en muchos países vecinos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. ABBAS, K. Abul. Inmunología celular y molecular. 5ª ed. Elsevier. Madrid. 2004. ISBN 84-8174-710-6.
2. ARANDA T. Eduardo et al. Texto de la cátedra de pediatría. 3ª ed. Elite. La Paz. 2007. ISBN 978-99954-0-138-2.
3. BALCELLS, Alfonso. La clínica y el laboratorio. 20 ed. Masson-Elsevier. Barcelona. 2006. ISBN 84-458-1612-8.
4. BAMBERGER, David. BOYD Sarah. Management of Staphylococcus aureus Infections. American Family Physican. Vol. 72. Nº 12. 2005. Kansas City.
5. BORRAZ, Carmen. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de Staphylococcus aureus aisladas en hospitales españoles. Universidad de Barcelona. 2006. Barcelona.
6. BUSTOS M. Jaime, et al. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomed. Vol 17. Nº4. 2006. Mexico.
7. DELGADO, R. Alfonso. Protocolos diagnósticos y terapéuticos de la A.E.P.. Tomo II Infectología. 2 ed. AEP. Madrid. 2001.
8. FLORES, Jesús. Et al. Farmacología Humana. 3 ed. Masson. 1997. Barcelona. ISBN 84-458-0613-0.
9. GARCIA, J.A.; Gomis, M.; et al. Historia de la antibioterapia. Zaragoza, 1997.
10. GASPAR, Maria. Detección y erradicación de la colonización nasal por S. aureus. Eficacia de mupirocin. Universidad Complutense de Madrid 1995. Madrid.
11. GIL, Mónica. Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a la meticilina. Revista Chilena de Infectología. Vol. 17. Nº 2. 2000. Chile.
12. GRANADOS Pérez, Raquel; et al. Microbiología Tomo I. Paraninfo. 1 ed. Madrid. 2003. ISBN 84-9732-123-5.

13. GRANADOS Pérez, Raquel; et al. Microbiología Tomo II. Paraninfo. 1 ed. Madrid. 2003. ISBN 84-283-2408-5.

14. HERNANDEZ P. el al. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* y de *Staphylococcus aureus* en pacientes con conjuntivitis. Universitas Scientiarum. Volumen 10. Numero 2. 2005. Bogota.

15. HERNANDEZ Maria et. al. Resistencia a antimicrobianos y evaluación del tratamiento combinado en la septicemia neonatal. Revista Panamericana de Salud Publica. Vol. 13. Nº 4. 2003. La Habana.

16. HERNANDEZ. Ibis, et al. Staphylococcus aureus resistente a la meticilina: detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad. Revista Cubana de medicina tropical. Vol 55. Nº 3. 2003. La Habana.

17. KASPER, Dennos; Et al. Harrison Principios de Medicina Interna. Vol I. Mc Graw Hill. 16 ed. Chile 2005. ISBN 970-5166-1.

18. LARA, Maria. Perfil de resistencia a antimicrobianos de Staphylococcus aureus resistentes a la meticilina. Universidad Autónoma de Nicaragua-León. 2003. Nicaragua.

19. LEE, Jhon, et al. Evaluation of the Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)-Screen Latex Agglutination Test for Detection of MRSA of Animal Origin. Journal of Clinical Microbiology. Volumen 42. Numero 6. 2004.

20. MAC FADDIN, Jean. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia Clínica. Panamericana. 3º ed. Buenos Aires. 2003. ISBN 950-06-1572-X.

21. MALAGON O, HERNANDEZ E. Infecciones Hospitalarias. 1 ed. Bogota: Panamericana; 1995.

22. MALTEZOU H, GIAMARELLOU H. Infecciones extrahospitalarias pos Staphylococcus aureus resistente a meticilina. International Journal of Antimicrobial Agentes. Sociedad Iberoamericana de Información Cientifica. 2006.

23. MARIN, F. Josefa. Manual de SPSS 11.5 para Windows. Universidad de Murcia. 2004.

24. MAURY F, Sdenka; MEJIA S, Hector; VELASCO, Victor Hugo. Estudio de la infecciones mosocomiales en el Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria". Rev. Soc. Boliv. Pediatr; 42(2):93-98, 2003.

25. MEMBREÑO, Juana. Comportamiento clínico y epidemiológico de las infecciones Nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos neonatales del Hospital Escuela Dr. Oscar Danilo Rosales Argüello. Periodo comprendido de octubre 2002-Enero 2004. Universidad autónoma de Nicaragua. 2004. Nicaragua.

26. MIMS, . Microbiología Médica. Harcourt Brace. 2 ed. Madrid. 1999. ISBN 84-8174-396-8.

27. MURRAY, Patrick et al. Microbiología Médica. Elsevier Science. 4 ed. Madrid. 2002. ISBN 84-8174-610-X.

28. NCCLS. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. ISBN 1-55581-347-X.

29. RED BOOK. Memoria del comité de enfermedades infecciosas. American Academy of Pediatrics. 26 ed. Mexico 2003.

30. RODRIGUEZ F. Elías. Infecciones emergentes y enfermedades nuevas. Rubin. 1 ed. Universidad de León. España 2004. ISBN 84-95917-18-1

31. ROJAS, T. Oscar. Manual para la prevención de infecciones hospitalarias. 1 ed. Punto de Encuentro. La Paz. 2002.

32. RUIZ, David. Manual de estadística. 1 ed. Eumed. 2004. ISBN 84-688-6153-7.

33. Sociedad Venezolana de Microbiología. Epidemiología molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en una unidad de alto riesgo neonatal. Cumana 2006.

34. TORAÑO, Gilda et al. Portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina entre niños cubanos que asisten a círculos infantiles. Vol. 19. Numero 19. Enferm Infecc Microbiol Clin. La Habana. 2001.

35. VALMAN, Bernard. La salud de sus hijos. 1 ed. Amereida. Santiago Chile. 1998. ISBN 0-7513-0317-8.

36. VOSS A, MILATOVIC D, WALLRAUCH-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Eur J Clin Microbiol Inf Dis. 1994.

37. WYNGAARDEN, James; Smith, Lloyd; et al. Cecil Tratado de Medicina Interna. Vol II. Interamericana-Mc Graw Hill. 19 ed. Mexico DF, 1992. ISBN 968-25-2030-4.

38. VILLARROEL, Luís. Diplomado en "Preparación, gestión y evaluación de proyectos empresariales, Modulo estudios de demandas y necesidades, aplicación de métodos cualitativos y cuantitativos". CEMLA. La Paz. 2006.

39. AZZIMONTI, Renzo, JC. Bioestadística Aplicada a Bioquímica y Farmacia. Descargado de arr_pss@ciudad.com.ar

ANEXO A

La Matriz MAPIC, es un sistema organizado para la elaboración de investigaciones en función a los resultados esperados; este sistema consta de 7 pasos, los cuales van enmarcando la investigación en un modelo estadístico, para posteriormente ver que métodos estadísticos se emplearan en la investigación.

Los 7 pasos son los siguientes:

1. **Definición de resultados esperados:** Es el inicio de la investigación; aquí se plantea que resultados se esperan obtener en función a la investigación que se pretende llevar a cabo.
2. **Definición de la población y unidades de observación:** Aquí se plantea que población será sometida al estudio; donde de preferencia se usa una población finita.
3. **Definición de las variables.** Estas surgen en función a los resultados esperados, donde para cada resultado se puede tener diferente número de variables.
4. **Método de colecta de los datos.** Para un estudio en las ciencias de la salud se recomienda el empleo de métodos directos, por su alta confiabilidad.
5. **Definición del plan de muestreo.** El método empleado en este trabajo es por conglomerados, donde cada conglomerado esta formado por cada una de las salas sometidas a estudio.
6. **Definición del tamaño de la muestra:** ojo que esto solo se realiza en estudios estadísticos inferenciales y no así en estadística descriptiva.
7. **Método estadístico.** Para este estudio, se selecciono como herramienta estadística el empleo de los porcentajes; y test no parametricos Ji cuadrado (χ^2), coeficientes de correlación: tau-b de Kendall (τ b de Kendall) y rho de Spearman (ρ de Spearman)

ANEXO B

Tabla de datos recolectados para la tesis; tabla empleada para alimenta el programa estadístico SPSS 11,5.

UNIDAD	EDAD	GENERO	MUESTRA	RESISTEN
1	1	0	1	0
1	0	1	3	0
0	0	1	1	1
0	0	0	1	1
0	0	1	2	1
1	0	1	1	0
1	0	0	1	0
2	0	1	1	0
3	0	0	1	0
0	1	0	1	0
0	0	1	2	0
2	3	0	1	0
2	3	1	2	0
2	0	0	2	0
2	0	1	1	0
2	2	1	2	0
3	2	0	2	0
3	0	0	2	0
0	2	1	1	0
0	0	0	1	0
0	2	1	2	1
0	0	1	1	0
1	1	1	2	0
2	2	0	1	0
3	0	1	2	0
2	1	0	2	0
0	0	1	0	0
0	1	1	3	0
0	0	0	1	0
2	0	1	2	0
2	1	0	1	0
3	1	1	2	0
2	1	1	0	0
2	1	0	3	0

Significado de los códigos para la interpretación de la tabla

VALOR	UNIDAD	EDAD	GENERO	MUESTRA	RESISTENCIA
0	Neonatología	0-1 año	Femenino	Sec. Nasal	Sensible
1	Neumología	1-2 años	Masculino	Sec. Conjun	Resistente
2	Infectología	2-3 años		Exudado	
3	UTI	3-5 años		Hemocultivo	

ANEXO C
MEDIOS Y PRUEBAS EMPLEADAS

Agar Manitol Salado

Medio selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos. El alto contenido salino proporciona una inhibición selectiva, y el rojo de fenol pone de manifiesto la fermentación del manitol.

Componente	Masa en g/l
Extracto de carne de Res	1.0
Polipeptona	10.0
Cloruro de sodio	75.0
d- Manitol	10.0
Rojo de fenol	0.025
Agar	15.0

Preparación:

Resuspender 111 gramos del polvo en un litro de agua destilada; dejar reposar durante 5 minutos. Luego calentar a ebullición hasta disolver completamente. Esterilizar en autoclave entre 118-121ºC durante 15 minutos. Fraccionar en placas de Petri previamente esterilizados.

Agar Müller-Hinton

Medio ideal para realizar el procedimiento de antibiograma; recomendado por la NCCLS; este medio permite la difusión del antibiótico a través del medio; y además otorga resultados que pueden ser reproducidos en cualquier laboratorio.

Componente	**Masa en g**
Infusión de carne	300
Peptona de caseína	17,5
Almidón soluble	1,5
Agar	17.0

Preparación:

Resuspender 37 gramos del polvo en un litro de agua destilada; dejar reposar durante 10-15 minutos. Luego calentar a ebullición hasta disolver completamente. Esterilizar en autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Fraccionar en placas de Petri previamente esterilizados.

Caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI)

Medio de enriquecimiento optimo para el desarrollo de microorganismos exigentes y para promover el desarrollo de saturados. Los nutrientes de este caldo también son muy apropiados para los hemocultivos, los estafilococos que crecen en este medio suelen dar mejores resultados en la prueba de la coagulasa.

Componente	**Masa en g**
Infusión de Cerebro de Ternera	200
Infusión de Corazón Vacuno	250
Cloruro de sodio	5
Peptona	15
Glucosa	2
Fosfato di sódico	2,5

Preparación:

Resuspender 37 gramos del polvo en un litro de agua destilada; calentar a ebullición hasta disolver completamente. Esterilizar en autoclave a 121ºC durante 15 minutos. Fraccionar en tubos previamente esterilizados.

Catalasa

Principio

El peróxido de hidrógeno es uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los carbohidratos. La acumulación de este metabolito es toxico; llegando ser letal en el interior de las células bacterianas por la formación de ERO`s, razón por la cual estas bacterias producen catalasa, que transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno de acuerdo a la siguiente reacción:

$$\mathbf{H_2O_2 + H_2O + O_2\ (burbujas\ de\ gas)}$$

La detección de catalasa es un procedimiento que puede ser llevado a cabo en portaobjetos o en tubos, es comúnmente utilizada para diferenciar estreptococos (negativos) de estafilococos (positivos).

Procedimiento

Prueba en portaobjetos

1. Transferir, con asa, células del centro de una colonia bien aislada, a la superficie de un portaobjetos en el que se coloco una pequeña gota de agua. Emulsionar bien.
2. Añadir 1 o 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 3%. Se recomienda no añadir el organismo al reactivo, especialmente si se utilizan ansas que contengan hierro, ya que se pueden producir falsos positivos.

Factor de Aglutinación y Coagulasa

Principio

Factor de Aglutinación: El factor de aglutinación es un compuesto asociado a la superficie celular el cual se une al fibrinógeno, dando como consecuencia la aglutinación de los microorganismos portadores cuando los mismos se mezclan con plasma.

Coagulasa: La coagulasa es una enzima que favorece la coagulación sanguínea como mecanismo de protección frente a las células de defensa del huésped. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible como consecuencia de la polimerización a la fibrina.

Técnica

Prueba en tubo. (Coagulasa)

1. Preparar un saturado de S. aureus.

2. Tomar una parte de saturado y mezclar con una parte de plasma de conejo (Humano).

3. Homogenizar suavemente y dejar incubando.

4. Realizar la lectura a la hora, 2 horas, 3 horas y cuatro horas.

Anticoagulante de Wintrobe

El anticoagulante de Wintrobe es considerado como el anticoagulante ideal, ya que mantiene la morfología de las células mayor tiempo con respecto a otros anticoagulantes, además evita la formación de conglomerados de plaquetas.

Componente	**Masa en g**
Oxalato de Amonio	1.2
Oxalato de potasio	0.8
Agua Destilada c.s.p.	100

Preparación.

Mezclar y disolver todos los reactivos en agua destilada, y fraccionar en frascos 0,1 ml de la solución por cada ml de sangre; usualmente 0,3 a 0,4 ml y poner a secar en estufa hasta que se observe un polvo blanco por aproximadamente 20 minutos.

ANEXO D

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE PACIENTES

Número: ---------- **Fecha:** ----------

Nombre y Apellidos: ----------

Edad: ---------- **Genero:** ----------

Servicio de Hospitalización

- **UTI** ☐
- **Neumología** ☐
- **Infectología** ☐
- **Neonatología** ☐

Tipo de Muestra

- **Hemocultivo** ☐
- **Exudado** ☐
- **Secreción Nasal** ☐
- **Secreción conjuntival** ☐

Resultados

	R	I	S
Oxacilina	**≤ 10** ☐	**11-12** ☐	**≥ 13mm** ☐