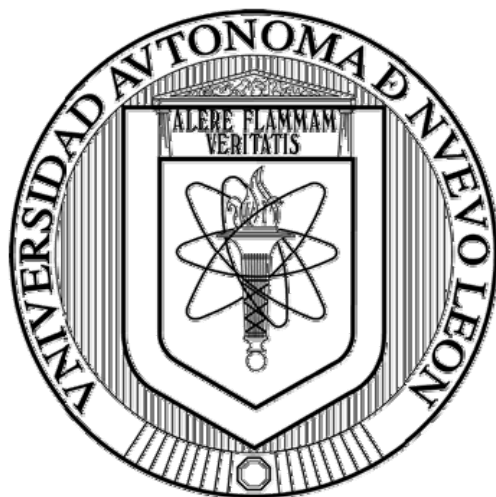


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ACTIVIDAD IN VITRO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS SOBRE
Staphylococcus aureus METICILINO RESISTENTE (MRSA): EVALUACIÓN
COMPARATIVA DEL MÉTODO E-TEST Y DILUCIÓN EN TUBO

Por

DAVID ROSENDO BRISEÑO ESTRADA

Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS
con Especialidad en Microbiología

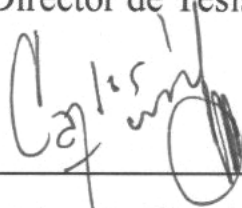
Octubre, 2007

ACTIVIDAD IN VITRO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS SOBRE
***Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE (MRSA): EVALUACIÓN**
COMPARATIVA DEL MÉTODO E-TEST Y DILUCIÓN EN TUBO

Comité de Tesis



Dra. Licet Villarreal Treviño
Director de Tesis



Dr. Carlos Eduardo Hernández Luna
Secretario



Dr. Roberto Mercado Hernández
Vocal

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Licet Villarreal Treviño directora de mi tesis, por la oportunidad de trabajar en su laboratorio, así como al Dr. Carlos Eduardo Hernández Luna y al Dr. Roberto Mercado Hernández por formar parte del comité de tesis, por sus valiosas sugerencias e interés en la revisión del presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo a través de una tesis de maestría para la realización de mis estudios y superación académica.

Al PAICYT-UANL por la aprobación del proyecto con la clave CN1317-06.

A la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 IMSS y a todo su equipo de trabajo que colaboró de una u otra manera en este trabajo, en especial a las Químicas Norma y Elisa por su paciencia y dedicación con el otorgamiento de muestras.

A todo el personal del Laboratorio de Microbiología General de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL.

A mi familia y seres queridos por todo el apoyo y confianza que siempre me han brindado.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS.....	iii
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
NOMENCLATURA.....	viii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	4
3. OBJETIVOS.....	5
3.1 Objetivo general.....	5
3.2 Objetivos particulares.....	5
4. ANTECEDENTES.....	6
4.1 Aspectos microbiológicos.....	6
4.2 Factores de virulencia.....	6
4.3 Colonización de <i>S. aureus</i>	8
4.4 Manifestaciones clínicas.....	9
4.5 Consecuencias de infecciones por MRSA.....	11
4.6 Epidemiología de MRSA.....	12
4.7 Resistencia bacteriana.....	13
4.7.1 Penicilina y meticilina.....	15
4.7.2 Quinolonas.....	16
4.7.3 Vancomicina.....	17
4.7.4 Quinupristin-dalfopristin.....	19
4.7.5 Linezolid.....	20
4.7.6 Daptomicina.....	21
4.8 Tratamiento antimicrobiano.....	23

5. MÉTODOS.....	25
5.1 Origen de las cepas.....	25
5.2 Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	25
5.2.1 Catalasa.....	25
5.2.2 Coagulasa.....	26
5.3 Selección de cepas resistentes a meticilina (oxacilina).....	26
5.3.1 Preparación del medio Agar Müller-Hinton.....	26
5.3.2 Estándar de turbidez para la preparación del inóculo.....	27
5.3.3 Activación de la cepa.....	27
5.3.4 Preparación del inóculo.....	27
5.3.5 Inoculación de las placas.....	28
5.3.6 Prueba de sensibilidad a la oxacilina.....	28
5.3.7 Lectura de las placas e interpretación de los resultados.....	28
5.4 Determinación de los patrones de resistencia antimicrobiana por el método E-test.....	29
5.4.1 Aplicación de las tiras E-test a las placas inoculadas.....	29
5.4.2 Lectura de las placas e interpretación de los resultados.....	30
5.5 Determinación de los patrones de resistencia antimicrobiana por el método de dilución en tubo.....	30
5.5.1 Preparación del medio Caldo Müller-Hinton.....	31
5.5.2 Preparación del antibiótico.....	31
5.5.3 Estandarización y preparación del inóculo.....	31
5.5.4 Inoculación de los tubos.....	32
5.5.5 Lectura de los tubos e interpretación de los resultados.....	32
5.6 Determinación de la concentración mínima bactericida.....	32
5.7 Procedimiento estadístico.....	32
6. RESULTADOS.....	33
6.1 Aislamiento e identificación.....	33
6.2 Resistencia a oxacilina.....	34
6.3 Determinación de los patrones de resistencia por el método E-test.....	35
6.4 Determinación de los patrones de resistencia por el método de dilución en tubo.....	39
6.5 Análisis estadístico SPSS (Statiscal Package for Social Sciences).....	44
7. DISCUSIÓN.....	47
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
9. LITERATURA CITADA.....	52
RESUMEN BIBLIOGRÁFICO.....	62

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Terapia para infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i>	24
II. Criterios de clasificación para los diferentes antimicrobianos.....	35
III. Concentraciones mínimas inhibitorias obtenidas por E-test.....	36
IV. Distribución de frecuencias de CMI determinados por E-test.....	39
V. Concentraciones mínimas inhibitorias y concentraciones mínimas bactericidas obtenidas por dilución en tubo.....	40
VI. Distribución de frecuencias de CMI determinadas por dilución en tubo.....	43
VII. Distribución de la relación CMB/CMI y porcentaje de tolerancia.....	43
VIII. Estadísticas descriptivas de los antimicrobianos y su interacción con los métodos E-test y dilución en tubo.....	45
IX. Estadística descriptiva para los diferentes antibióticos.....	46
X. Estadística descriptiva para los dos tratamientos.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Interpretación de la técnica de difusión en disco.....	28
2. Interpretación de la técnica E-test.....	30
3. Cocos Gram positivos, 100 X.....	33
4. Prueba de catalasa y prueba de coagulasa.....	33
5. Criterio de interpretación de la técnica de difusión en disco para oxacilina.....	34
6. Gráfica de resistencia a oxacilina.....	34
7. Visualización de las tiras E-test sobre las placas con agar.....	35
8. Gráfica de los porcentajes de susceptibilidad obtenidos por E-test.....	38
9. Determinación de las CMI mediante la técnica de dilución en tubo.....	39
10. Gráfica de los porcentajes de susceptibilidad obtenidos por dilución en tubo.....	42

NOMENCLATURA

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
ATP	Adenosina trifosfato
CI	Ciprofloxacina
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
DPC	Daptomicina
EARSS	El Sistema Europeo de Vigilancia Antimicrobiana
EM	Eritromicina
EU	Estados Unidos
FDA	Administración de Alimentos y Drogas
GA	Gatifloxacina
h	Horas
ICARE	Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en Cuidados Intensivos
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
LE	Levofloxacina
LZ	Linezolid
µg	Microgramo
µm	Micrometro
mm	Milímetros
mL	Mililitro
MLSB	Macrólido-lincosamida-estreptogramina B
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> susceptible a meticilina
nm	Nanometros
NNISS	Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales
PBP	Proteína fijadora de penicilina

Q-D	Quinupristin-dalfopristin
SCOPE	Vigilancia y Control de Patógenos de Importancia Epidemiológica
SCV	Variantes de colonias pequeñas
TP	Teicoplanina
TSN	Red de Vigilancia
TSST	Toxina del síndrome de choque tóxico
UFC	Unidades formadoras de colonias
UMAE	Unidad Médica de Alta Especialidad
VA	Vancomicina
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> con resistencia intermedia a vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina

RESUMEN

Staphylococcus aureus con resistencia a meticilina (MRSA) es un patógeno para el ser humano que actualmente se encuentra entre los principales lugares como causa de infecciones en pacientes internados dentro de los nosocomios. Este patógeno, en los últimos años, ha tenido mayor presencia en infecciones en la comunidad. Es capaz de producir una gran variedad infecciones, desde aquellas relativamente fáciles de curar hasta infecciones de pronóstico severo si no se administra un tratamiento oportuno. Esta bacteria, a través de los años, ha venido adquiriendo resistencia hacia muchos tipos de antimicrobianos, imposibilitando su tratamiento, lo que se ha reflejado en un aumento en la morbilidad y mortalidad de los pacientes. Debido a la importancia que tiene esta bacteria en los centros médicos y a su continua habilidad para resistir el efecto de los antimicrobianos, fue que se realizó el presente trabajo. Se llevó a cabo un análisis para determinar la incidencia de este patógeno en el interior de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 IMSS de la ciudad de Monterrey, además de determinar sus patrones de resistencia a distintos agentes antimicrobianos. Para lograr tal análisis se llevaron a cabo las técnicas de E-test y dilución en tubo y se determinó la correlación de ambas técnicas para la determinación de resistencia. Los agentes examinados fueron aquéllos de uso tradicional, como es la eritromicina, ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina, así como aquéllos de uso reciente, tales como el linezolid, vancomicina, teicoplanina, quinupristin-dalfopristin y daptomicina. Se observó un 59 % de presencia de MRSA entre las cepas de *S. aureus* analizadas. Asimismo, se observó mayor actividad de los compuestos de uso reciente sobre los de uso tradicional. Los agentes linezolid, teicoplanina, vancomicina, daptomicina y quinupristin-dalfopristin fueron los de mayor actividad en contra de MRSA, obteniéndose porcentajes de susceptibilidad de 95 % para daptomicina y quinupristin-dalfopristin y de 100 % para linezolid, teicoplanina y vancomicina, mientras que los agentes eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina fueron los menos eficiente con promedios de resistencia de 92 %, 87 %, 91%, 90 % respectivamente. Se pudo observar el fenómeno de tolerancia en un 12% hacia los antimicrobianos de último recurso contra MRSA, como lo son vancomicina y teicoplanina. Por último, se concluyó que los resultados obtenidos mediante la técnica de E-test tienen correlación con los obtenidos mediante la dilución en tubo en la determinación de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana para cepas de MRSA.

ABSTRACT

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a pathogenic bacterium to humans that is currently among the top places of cause of infections in patients committed within the hospitals, also in recent years it has had greater presence in community infections. MRSA is able to produce a great variety of infections, from those relatively easy to cure to infections of severe prognosis if an opportune treatment is not administered. Through the years, this bacterium has been acquiring resistance towards many types of antimicrobial agents disabling its treatment, which has been reflected in an increase in the morbidity and mortality of the patients. The present research has emerged due to the importance that this bacterium has in health facilities and to their continuous ability to resist the effect of the antimicrobial agents. An analysis to determine the incidence of this pathogen inside the Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 IMSS in the city of Monterrey took place, to determine the pathogen's patterns of resistance to different antimicrobial agents. In order to obtain such analysis the E-test and broth dilution techniques were carried out, and the correlation of both techniques of resistance were determined. The examined agents were those of traditional use as it is erythromycin, ciprofloxacin, levofloxacin and gatifloxacin, as well as those of recent use such as linezolid, vancomycin, teicoplanin, quinupristin/dalfopristin and daptomycin. We observed the presence of 59 % of MRSA between the strains of *S. aureus* analyzed. Also greater activity of compounds of recent use was observed against those of traditional use. The agents linezolid, teicoplanin, vancomycin, daptomycin and quinupristin/dalfopristin were those of greater activity against MRSA obtaining percentage of susceptibility of 95 % for daptomycin and quinupristin/dalfopristin and of 100 % for linezolid, teicoplanin and vancomycin, whereas for the agents erythromycin, gatifloxacin, ciprofloxacin and levofloxacin were less efficient with averages of resistance of 92 %, 87 %, 91%, 90 % respectively. The phenomenon of tolerance could be observed in a 12 % towards the antimicrobial agents of last resource against MRSA, as they are vancomycin and teicoplanin. Finally, it was concluded that the results obtained by means of the E-test technique have correlation with those obtained with the broth dilution technique in the determination of the patterns of antimicrobial susceptibility for MRSA strains.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente las enfermedades infecciosas representan el primer lugar de muertes en el ser humano a nivel mundial. Estas infecciones pueden ser causadas por diversos grupos de microorganismos, entre los que destacan las bacterias, hongos, parásitos y virus. Dentro de las bacterias que causan estos padecimientos, se encuentra *Staphylococcus aureus*, la cual ha venido ocupando por años los primeros lugares como agente causal de infecciones en el ambiente hospitalario y su presencia en la comunidad, además, ha ido aumentando en años recientes. Esta bacteria presenta una patogénesis muy variada, donde participan diversas proteínas, enzimas, toxinas, entre otros componentes. Por otro lado, produce una serie de enfermedades que van desde infecciones en piel relativamente fáciles de curar hasta infecciones más complicadas, como lo son bacteriemias, endocarditis, neumonía y osteomielitis. En los últimos años esta bacteria se ha vuelto resistente a numerosos antibióticos destinados para su control, limitando así las opciones para su tratamiento; y debido a que esta bacteria se puede encontrar en las manos y fosas nasales de los portadores, existe gran facilidad para transmitirse y diseminarse en el interior de un nosocomio, complicando aún más su control y erradicación.

La resistencia antimicrobiana hoy en día es uno de los principales problemas que enfrentan los diversos centros de salud. Para el área clínica es un reto constante el tratar de aplicar un tratamiento adecuado, eficiente y oportuno para las infecciones bacterianas. Muchas veces se administra un tratamiento sin saber si la bacteria causante de infección es resistente a ese antibiótico, debido a que las infecciones deben tratarse la mayoría de las veces de forma empírica por la lentitud de los estudios microbiológicos. En estos casos, el tratamiento debe apoyarse en la etiología más probable del cuadro clínico, en la sensibilidad esperada de los patógenos más frecuentes y en los resultados previsibles según los patrones de sensibilidad del entorno. Por esta razón, los laboratorios de microbiología deben monitorear las tendencias de la resistencia de estas bacterias dentro del nosocomio, para evitar el uso de antibióticos innecesarios que sólo agravan la propagación de dicha resistencia.

Las cepas resistentes predominan debido a la presión selectiva de los antibióticos que hacen que las bacterias sensibles desaparezcan. La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente con implicaciones sociales y económicas enormes, debido, justamente, a su incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas. Estas razones llegan a ser un factor importante en las tomas de decisiones acerca el destino del paciente.

La resistencia se ha descrito desde los principios de la era antibiótica. Un primer hecho de importancia fueron las cepas de *Staphylococcus aureus*, capaces de degradar la penicilina, y posteriormente la aparición de resistencia de esta bacteria por la meticilina. En sus inicios este problema se resolvió con el descubrimiento o síntesis de nuevos agentes capaces de controlar a las bacterias resistentes. Sin embargo, estos compuestos ya no son suficientes, debido a que cada vez existen nuevos mecanismos que evitan su acción frente a las bacterias. Se ha encontrado que la prevalencia de organismos patógenos resistentes a los antibióticos es cada vez mayor; a su vez, el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos activos contra estos organismos es mucho más lento. Esta lentitud se debe en gran parte al costo de la síntesis de nuevos compuestos, el cual resulta excesivo; otra razón es la falta de nuevos blancos de acción para los antibióticos.

El laboratorio juega un papel importante a la hora de reportar casos de resistencia que, en determinado momento, se presenten contra los fármacos que se están aplicando en determinado momento en el hospital, ya que permite la detección precoz de cepas resistentes que pueden controlarse con cambios oportunos en los antibióticos autorizados para uso en la institución. El otro rol fundamental del laboratorio es tipificar los gérmenes en el menor tiempo posible, dando además su perfil de susceptibilidad para pasar de la terapia empírica a la específica con el antibiótico indicado para el germen identificado. El antibiótico debe elegirse teniendo en cuenta que sea no sólo específico; también debe buscarse un fármaco económico, que pueda pasar de administración intravenosa a vía oral en el menor tiempo posible y en los casos que sea factible, pasar a un esquema con mayores dosis y menor frecuencia de administración. El trabajo conjunto del clínico y el personal

de laboratorio logran con esto un uso racional de los antibióticos, lo que reflejará sus resultados en ganancias tanto para el paciente como para la institución.

Para realizar sus funciones, el personal del laboratorio tiene a su alcance diversos métodos para determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana, entre los que destacan los de dilución tanto en tubo como en agar, los de difusión en agar y algunos más novedosos, como el de las tiras E-test. Con todas estas técnicas a su disponibilidad, el laboratorio debe realizar comparaciones constantes entre estos métodos para poder establecer la reproducibilidad y la sensibilidad de unos contra otros, y así poder recomendar este método como más efectivo para el análisis de un antimicrobiano o algún patógeno en particular. Además, al establecer las posibles diferencias entre los distintos métodos, se garantiza que el reporte entregado al área clínica sea el más correcto.

2. HIPÓTESIS

La técnica E-test es igualmente efectiva que la técnica de dilución en tubo para determinar CMI y susceptibilidad antibiótica en *S. aureus*, que presenta resistencia a los fármacos de uso tradicional, sin embargo, existen otros antibióticos de actual aplicación que son activos contra dicho patógeno.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Comparar la actividad *in vitro* del linezolid, teicoplanina, vancomicina, daptomicina, eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina, levofloxacina y quinupristin-dalfopristin sobre *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) mediante las técnicas de dilución en tubo y E-test.

3.2 Objetivos particulares

- 1.- Aislar e identificar *S. aureus* a partir de diferentes muestras, provenientes de pacientes internados en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 IMSS.
- 2.- Seleccionar las cepas de *S. aureus* meticilino resistentes (MRSA).
- 3.- Establecer las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y los patrones de susceptibilidad para antibióticos usados tradicionalmente (eritromicina, ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina) mediante las técnicas E-test y dilución en tubo.
- 4.- Determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y los patrones de susceptibilidad para otros fármacos de uso reciente (linezolid, vancomicina, teicoplanina, quinupristin-dalfopristin y daptomicina) por las técnicas E-test y dilución en tubo.
- 5.- Determinar las diferencias significativas entre ambos métodos empleando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences).

4. ANTECEDENTES

4.1 Aspectos microbiológicos

Staphylococcus aureus es una bacteria esférica Gram positiva, aproximadamente de 1 μm de diámetro. Se agrupa en conjuntos de células que se asemejan a un racimo de uvas, indicativo de su habilidad de dividirse en más de un plano. Es capaz de llevar a cabo respiración aeróbica y anaeróbica. En agar sangre forma colonias que se caracterizan por su color dorado o blanco (Brown *et al.* 2005).

4.2 Factores de virulencia

S. aureus está bien adaptado al cuerpo humano y es capaz de esconderse en compartimientos intracelulares. Durante la infección produce una gran variedad de factores de virulencia, entre los cuales hay moléculas que interfieren con la quimiotaxis de los neutrófilos hacia el sitio de infección (Belkum & Verbrugh, 2001).

Los componentes bacterianos y los productos secretados, como las adhesinas asociadas a superficie, polisacárido capsular, exoenzimas, y exotoxinas, permiten a la bacteria adherirse a la membrana celular, resistir la opsonofagocitosis, lisis celular, y desencadenar la cascada de moléculas inmunomoduladoras.

Debido a la naturaleza multifactorial de las infecciones de *S. aureus* y a la redundancia funcional de las adhesinas y exoproteínas, ha sido difícil clasificar el papel individual que juega cada factor de virulencia en el proceso patogénico (O’Riordan & Lee, 2004).

El peptidoglucano es el principal componente de la **pared celular** y está constituido por largas cadenas de compuestos glucosídicos, formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos que se unen entre sí para formar una malla mediante un pentapéptido de glicina.

Los componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplasmática al espacio que existe entre ésta y la pared celular. A este nivel, existen unas proteínas con actividad enzimática (transpeptidasas y carboxipeptidasas), que son las encargadas de formar los tetrapéptidos unidos. Estas enzimas fijan a las penicilinas y otros β -lactámicos, por lo que se llaman proteínas que unen penicilina (PBP por sus siglas en inglés) (Marín & Gudio, 2003).

Se estima que más del 90 % de las cepas de *S. aureus* producen una **cápsula** de polisacáridos; de los 11 serotipos identificados sólo el 8 y 5 se han aislado de muestras clínicas, siendo mayor el serotipo 8. La cápsula ayuda a la bacteria a escapar de la respuesta inmune del huésped, diseminándose hacia el torrente sanguíneo y tejidos. También confiere a la bacteria la habilidad de evadir la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares humanos (Luang & Lee, 2002). Otra de las funciones de la cápsula es la de promover la formación de abscesos; de igual manera, se ha visto que favorece la colonización y persistencia en las superficies mucosas (O'Riordan & Lee, 2004).

S. aureus es capaz de producir un amplia variedad de **toxinas**, entre las que destacan: la toxina del síndrome del choque tóxico (TSST-1 por sus siglas en inglés), enterotoxinas (A, B, Cn, D, E, G, H, I), toxinas exfoliativas (A y B), y leucocidina. Las enterotoxinas producen una intoxicación por alimentos y causan una gastroenteritis, caracterizada por vómito con o sin diarrea. Esta intoxicación es autolimitada y se resuelve entre las 24 y 48 horas posteriores.

Asimismo, todas las cepas secretan cuatro hemolisinas: alfa, beta, gama y delta; nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa. Su función principal

es la de convertir el tejido del huésped en nutrientes requeridos para el crecimiento bacteriano (Dinges *et al.* 2000).

4.3 Colonización de *S. aureus*

Los humanos son reservorios naturales de este microorganismo. Las personas que se encuentran colonizadas presentan mayor riesgo de una infección subsiguiente (Lowy, 1998). A esta bacteria se le asocia con la colonización asintomática de la piel y superficies mucosas de personas sanas (O’Riordan & Lee, 2004), por lo que existe la necesidad de agentes tópicos para su control para evitar así su diseminación entre pacientes o trabajadores dentro de un nosocomio (Deshpande *et al.*, 2002), ya que la forma de transmisión más común es por vía de manos temporalmente colonizadas (Lowy, 1998).

Un 20 % de la población es portador persistente, un 60 % porta la bacteria de forma intermitente, y un 20 % nunca ha portado a *S. aureus* (Foster, 2004). La tasa de portadores es mayor en garganta (40-50 %) que en nariz (30 %), y perdura por más tiempo también. No se ha detectado colonización exclusiva de nariz; siempre va acompañada por colonización de la garganta. Hasta la fecha no existe ninguna evidencia de que el índice de portador predomine en personas de un sexo en particular (Nilsson & Ripa, 2006), pero sí se ha visto una mayor incidencia en niños de 6 a 11 años de edad (Kuehnert *et al.* 2006).

La tasa de colonización de *S. aureus* en la población de Estados Unidos es de 31 % aproximadamente (Graham III *et al.* 2006), y de 0.8 % para *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) (Kuehnert *et al.* 2006). Entre la población de Estados Unidos, las personas nacidas en México y de otra ascendencia hispánica tienen un riesgo menor para ser colonizadas por *S. aureus* susceptible a meticilina (MSSA) y MRSA respectivamente (Graham III *et al.* 2006).

La colonización e infección por MRSA se ha reportado en caballos, perros, gatos, aves, y reses (Hanselman *et al.* 2006). En Holanda se ha detectado una incidencia de MRSA del 20 % en personal criador de cerdos (Wulf *et al.* 2006). En

estudios donde se ha encontrado la misma clona de MRSA colonizando personas, y en infecciones de animales, sugiere que la transmisión inter-especies puede ocurrir (Witte *et al.* 2007).

La infección por *S. aureus* ocurre con mayor frecuencia cuando una barrera de piel o mucosa es comprometida, seguida de la inserción de un objeto extraño en el cuerpo, y en personas con el sistema inmune comprometido (O’Riordan & Lee, 2004).

S. aureus se une a la matriz de proteínas extracelulares del huésped como primer paso fundamental para la patogénesis de la infección. La pared celular sirve como un organelo que expone proteínas superficiales que intervienen en la adhesión a los tejidos del huésped (Zong *et al.* 2004).

La patogénesis de *S. aureus* involucra los pasos de: 1) colonización, 2) infección local, 3) diseminación sistémica y/o sepsis, 4) infección metastásica y 5) toxinosis. Al ser inoculado en la piel desde el sitio de colonización, da por lo general un absceso local, desde aquí la infección puede diseminarse localmente (carbúnculo, celulitis, impétigo, infección de herida) o puede entrar a circulación sanguínea. Una vez en sangre, se disemina ampliamente por sitios periféricos, en órganos distantes, pudiendo dar como resultado un choque séptico. Como consecuencia de la diseminación sanguínea, pueden ocurrir un número variable de infecciones específicas (endocarditis, osteomielitis, carbúnculo renal, artritis séptica). Finalmente, aun si el organismo no llega al torrente sanguíneo, ciertos síndromes específicos pueden surgir por el efecto de toxinas locales o de forma sistémica (síndrome del choque tóxico, síndrome de piel escaldada, gastroenteritis debido al consumo de alimentos contaminados) (Archer, 1998).

4.4 Manifestaciones clínicas

S. aureus es un patógeno oportunista responsable de una amplia gama de enfermedades en humanos y animales (O’Riordan & Lee, 2004). Presenta tres características, las cuales, en conjunto, casi no se presentan en otras bacterias de importancia clínica. Es capaz de expresar una gran variedad de factores de

virulencia, además, continúa demostrando gran habilidad en la adquisición de resistencia a los agentes antimicrobianos y es un patógeno prominente en ambientes hospitalarios, como en la comunidad (Styers *et al.* 2006).

S. aureus es la causa más común de infecciones nosocomiales según reporta el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (Cosgrove *et al.* 2005); ha sido, ocupando los primeros lugares, la principal causa de muchas enfermedades padecidas a través de los años; su presencia, además, ha predominado en infecciones debido al uso de catéteres (Shah, Mond & Walsh, 2004), bacteriemias, infecciones en piel y tejido blandos y neumonías (Kim *et al.* 2004). Es causa de queratitis, donde llega a ocasionar inflamación severa, dolor, perforación de la córnea, cicatrización y pérdida de la agudeza visual (Dajcs *et al.* 2004). Es causa de infecciones en heridas y tiene el potencial invasivo de inducir una osteomielitis, endocarditis y bacteriemia, ocasionando infecciones secundarias en cualquiera de los sistemas del cuerpo (O’Riordan & Lee, 2004).

Según el programa de vigilancia antimicrobiana (SENTRY por sus siglas en inglés) *S. aureus* ha sido causa de un tercio de todas las infecciones invasivas de gravedad, incluyendo bacteriemias e infecciones respiratorias inferiores (Deshpande *et al.*, 2002). Reportes del mismo SENTRY de Estados Unidos y Canadá también ubican a *S. aureus* como el principal patógeno aislado de infecciones de sitio quirúrgico (Weigelt *et al.*, 2004).

La bacteriemia causada por *S. aureus* es sin duda la infección más común y con mayor riesgo de muerte. Las tasas de mortalidad han permanecido alrededor de un 30 %, y aun mayores en personas con algún factor de riesgo (Weems, 2001).

S. aureus es el patógeno aislado con mayor frecuencia en bacteriemias en el continente americano (Diekema *et al.*, 2001), y en cuanto al continente europeo, ha representado el 22% de bacteriemias en Bélgica (Denis *et al.*, 2002) y el 39 % en Inglaterra (Jonson *et al.* 2005).

La endocarditis es más común en pacientes con falla renal crónica, hemodiálisis, diabetes, alcoholismo, cáncer, inmunosupresión y adicción a drogas. Se

caracteriza por mayor prevalencia de sepsis severa, mayor número de eventos neurológicos y fallas en múltiples órganos, todo lo cual lleva a una alta mortalidad (Nadji *et al.* 2005).

Muy pocos casos de bacteriemia o infecciones locales progresan a sepsis. Algunos factores de riesgo son la edad avanzada, inmunosupresión, quimioterapia y procedimientos invasivos. Los síntomas incluyen fiebre, hipotensión, taquicardia e hiperventilación. Casos severos progresan a disfunción multiorgánica, coagulación intracelular diseminada, acidosis láctica y muerte (Lowy, 1998).

El síndrome del choque tóxico es una enfermedad aguda y potencialmente fatal. Se caracteriza por fiebre elevada, sarpullido eritomatoso difuso, descamación de la piel, hipotensión; además, involucra tres o más sistemas de órganos (Dinges *et al.* 2000).

4.5 Consecuencias de infecciones por MRSA

Las infecciones causadas por cepas MRSA están asociadas con una estancia hospitalaria mayor, más días de tratamiento antimicrobiano (Diederer *et al.* 2006), costos en su tratamiento más elevados (Cosgrove *et al.* 2005), y presentan un incremento en la morbilidad y mortalidad en comparación a las infecciones causadas por MSSA (Stevens *et al.*, 2002).

Los índices de mortalidad varían conforme la edad del paciente. Existe mayor mortalidad en personas de edad avanzada (de 66 a 90 años) que en los menores (de 18 a 60 años). Esta mortalidad representa más de la mitad en comparación a la que presentan pacientes de menor edad. La presencia de resistencia hacia la meticilina incrementa estas tasas en los pacientes mayores en comparación a cepas sensibles a dicho compuesto (McClelland *et al.*, 1999).

Los factores de riesgo para que un paciente adquiera MRSA en un centro de salud son multifactoriales. Las causas más comunes son: un incremento en personas de edad avanzada en la comunidad y hospital; tratamientos médicos cada vez más sofisticados, los cuales ocasionan que una mayor cantidad de gente sobreviva con

enfermedades crónicas; aumento en procedimientos invasivos; traslado de pacientes a las diferentes áreas del nosocomio; una estancia prolongada que aumenta la posibilidad de colonización y la terapia antibiótica prematura que estimula la colonización.

Las áreas de mayor riesgo para que se presente la infección cruzada son: unidad de cuidados intensivos, unidades de cuidados intensivos neonatal, unidad de quemaduras, unidad de trasplantes, unidad de cirugía cardiotorácica, unidad de cirugía ortopédica y unidad de cirugía vascular (Rayner, 2003).

4.6 Epidemiología de MRSA

S. aureus ha permanecido entre los tres primeros patógenos de importancia clínica durante las décadas pasadas (Belkum & Verbrugh, 2001).

En análisis realizados durante la segunda mitad de la década de los noventa por los sistemas: Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en Cuidados Intensivos (ICARE), Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNISS), Vigilancia y Control de Patógenos de Importancia Epidemiológica (SCOPE) y la Red de Vigilancia (TSN), se ha aislado a MRSA como primer lugar dentro de los patógenos resistentes de mayor importancia clínica. Por otro lado, MRSA es el patógeno más común causante de brotes de infección bien documentados en los hospitales de los Estados Unidos (Diekema *et al.* 2004).

En los Estados Unidos, MRSA ha llegado a representar el 60% de los aislados de las unidades de cuidados intensivos (Cardo *et al.* 2004). También se ha observado un aumento de MRSA en más del 60 % de los hospitales del mismo país, y una tendencia a bajar de tan sólo un 4 % (Diekema *et al.* 2004).

En Canadá, la incidencia de MRSA varía geográficamente y es más grande en Québec con un 27 % (LeBlanc *et al.* 2006), mientras que para México, en aislados pediátricos de su capital, ha representado sólo un 15 % (Velázquez-Meza *et al.* 2004).

El Sistema Europeo de Vigilancia Antimicrobiana (EARSS por sus siglas en inglés) reporta en promedio un 20% de MRSA. Se observa mayor resistencia en el sur y oeste de Europa y una menor en países del norte. Países como Islandia, Holanda, Dinamarca y Suecia presentan los índices de MRSA más bajos, siendo inferiores al 1 %, mientras que Italia, Irlanda, Inglaterra, Malta y Grecia presentan los índices más elevados de MRSA, llegando hasta un 45 % (Tiemersma *et al.* 2004).

En Holanda, la prevalencia de la resistencia a meticilina en aislamientos clínicos de *S. aureus* ha sido menor a 1 % durante la década pasada, permaneciendo así una de las más bajas en el continente europeo. La baja incidencia en este país se debe principalmente a la política nacional de “busca y destruye”, la cual exige el aislamiento y monitoreo de pacientes con riesgo de ser portadores de MRSA al momento de su admisión a las instituciones de salud. Por lo general, las personas en riesgo son aquéllas que han sido admitidas o tratadas en nosocomios extranjeros (Wulf *et al.* 2006).

En años recientes se ha presentado un incremento en los casos de infecciones en la comunidad causadas por MRSA. Estos brotes de infección han sido asociados a prisiones, al uso de drogas intravenosas, equipos deportivos y a hombres homosexuales. Las infecciones en piel y tejidos blandos son en las que con mayor frecuencia se ha aislado a MRSA; sin embargo, también se le ha asociado con sepsis y neumonía, principalmente en pacientes pediátricos (Moran *et al.*, 2005).

Actualmente ya existen reportes de infecciones por MRSA de origen comunitario en el interior de los hospitales; y viceversa: se están reportando infecciones comunitarias por MRSA asociadas a alguna institución de salud. Estos fenómenos constatan que muy pronto no habrá diferenciación entre cepas de *S. aureus* de origen comunitario y nosocomial (Klevens *et al.* 2006).

4.7 Resistencia bacteriana

La resistencia antimicrobiana en hospitales es regida por fallas en la higiene nosocomial, presión selectiva generada por el uso excesivo de antibióticos, y

elementos genéticos móviles que pueden codificar mecanismos de resistencia bacteriana (Weinstein, 2001). Considerando factores externos al nosocomio, se tiene el uso exagerado de estos compuestos como suplementos de engorda en alimentos para animales, y con el incremento en viajes regionales e internacionales, la facilidad relativa con la que las bacterias resistentes cruzan barreras geográficas (Lowy, 2003).

S. aureus presenta ciertas características que le proporcionan resistencia intrínseca a los antibióticos. Un fenotipo expresado es la presencia de variantes de colonias pequeñas (SCV por sus siglas en inglés); estas cepas presentan refractibilidad hacia los antibióticos y están presentes en infecciones recurrentes y persistentes. La sobrevivencia de estas variantes se debe a la capacidad para esconderse dentro de las células del huésped, lo cual limita su exposición ante los antibióticos. El tiempo de generación de estas variantes es de 6 a 9 veces mayor que las cepas normales de *S. aureus*, dando como resultado que en un lapso menor de 48 a 72 horas de incubación no se observe la presencia de colonias pequeñas. Este fenómeno lleva a que los tratamientos terapéuticos sean erróneos y que no se pueda determinar los patrones de susceptibilidad antibiótica de manera correcta (Kipp *et al.*, 2004).

La resistencia a los antibióticos por lo general involucra tres mecanismos: alteración del sitio blanco, producción de enzimas que inactivan el antibiótico, y modificaciones que previenen la acumulación celular del agente antimicrobiano (Sanders, 2001).

A lo largo de los años, las cepas MRSA han adquirido resistencia a la mayoría de los antimicrobianos existentes para uso clínico, limitando el tratamiento al uso de los glicopéptidos, como vancomicina y teicoplanina, y más recientemente a quinupristin-dalfopristin y linezolid; sin embargo, ya existen reportes de susceptibilidad reducida a estos fármacos (Sader, Johnson & Jones, 2004).

4.7.1 Penicilina y meticilina

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglucano. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúen los β -lactámicos, es necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular.

Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CIM de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CIM para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana (Marín & Gudío, 2003).

Un año después de la introducción de la penicilina al mercado, hubo reportes de resistencia a este agente en los nosocomios, donde se volvió cada vez más común, hasta llegar a la comunidad. Para el caso de la meticilina, se dio el mismo fenómeno: un año después de utilizarse el agente, se reportaron las primeras cepas MRSA; asimismo, éstas comenzaron en hospitales y continuaron en la comunidad, como se ha estado viendo alrededor del mundo (Deresinski, 2005).

En 1942 fueron reconocidos los primeros aislamientos de *S. aureus* resistentes a penicilina en el interior de nosocomios y, subsecuentemente, en la comunidad. La resistencia a la penicilina es mediada por el gen *blaZ*, el cual codifica para la enzima extracelular β -lactamasa. Esta enzima hidroliza el anillo β -lactámico del antibiótico, inhabilitando así su actividad contra *S. aureus* (Lowy, 2003).

El primer caso de MRSA fue reportado por primera vez en Inglaterra, en 1961, poco después de la introducción de la meticilina. A partir de ese momento, y

conforme han transcurrido los años, se ha venido reportando en gran parte del mundo (Huang *et al.*, 2004).

La resistencia hacia la meticilina es mediada por la expresión de una proteína de enlace a penicilina de baja afinidad (PBP2a por sus siglas en inglés), codificada por el gen *mecA*. La meticilina y todos los demás antibióticos β -lactámicos no logran unirse a esta PBP2a, observándose el fenómeno de resistencia (Katayama *et al.* 2004).

La presencia de gen *mecA* no es garantía de que se presente resistencia a meticilina. Existen casos (<2%) en los cuales *S. aureus* presenta el gen pero permanece susceptible a meticilina (Haddadin *et al* 2002).

4.7.2 Quinolonas

En los Estados Unidos las quinolonas recetadas con mayor frecuencia son la ciprofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina y moxifloxacina. Los agentes ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina han sido aprobados para usarse en infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones en hueso y articulaciones y neumonía nosocomial, entre muchas otras infecciones (Andriole, 2005).

Las quinolonas interactúan con dos blancos relacionados pero distintos en la células bacterianas: la ADN girasa y la topoisomerasa IV. Inhiben la síntesis de ADN y la síntesis de ARN. Esta inhibición está mediada por la capacidad de las quinolonas de unirse al complejo ADN-enzima. Se ha visto que los complejos quinolona-ADN girasa bloquean el paso de la ARN polimerasa y llevan a cabo la terminación prematura de la transcripción.

La citotoxicidad de las quinolonas involucra un proceso de dos pasos: primero la conversión del complejo quinolona-ADN topoisomerasa a una forma irreversible, y segundo, la generación de una ruptura en la doble cadena por desnaturalización de la topoisomerasa (Hooper, 2001).

Se han reportado dos mecanismos para la resistencia a fluoroquinolonas. El primero involucra mutaciones puntuales en los genes *grlA/grlB* y *gyrA/gyrB*, que codifican para las subunidades de la topoisomerasa IV y ADN girasa respectivamente. En *S. aureus*, el blanco principal de la ciprofloxacina es la topoisomerasa IV, y la ADN girasa es un objetivo secundario. El segundo mecanismo involucra una bomba expulsora de fluoroquinolonas por medio de la proteína asociada a membrana NorA. Esta bomba transporta de forma activa a las fluoroquinolonas y algunos otros compuestos no relacionados estructuralmente fuera de la célula bacteriana (Campion *et al.* 2004).

4.7.3 Vancomicina

La vancomicina fue introducida a nivel clínico en 1958 para el tratamiento de bacterias Gram positivas (Srinivasan *et al.* 2002). Este agente se obtiene a partir de *Streptomyces orientalis* (Jones, 2006). Se ha venido usando en casos de bacteriemia, endocarditis, neumonía, osteomielitis y meningitis (Haddadin *et al.* 2002).

El mecanismo de acción de la vancomicina consiste en un bloqueo físico del sustrato para la síntesis de la pared celular, el residuo D-alanil-D-alanina del precursor lipídico II, por lo que inhibe la utilización de los sustratos por parte de la glicosiltransferasa (enzima de síntesis de pared celular) para producir la cadena de peptidoglicano nueva (Cui *et al.* 2006). La vancomicina no penetra dentro del citoplasma, por lo que su interacción con su blanco sólo puede llevarse a cabo después de la translocación de los precursores a la superficie externa de la membrana (Courvalin, 2006).

La resistencia hacia vancomicina se lleva a cabo mediante un engrosamiento de la membrana bacteriana, el cual reduce el coeficiente de difusión de penetración de la vancomicina a través de las capas de peptidoglicano de la pared celular. Otro mecanismo aceptado es mediante el efecto de obstrucción con la vancomicina unida a las capas de peptidoglicano. Esto hace que exista un retraso de saturación en la membrana citoplasmática. Durante este retraso la bacteria pudiera haber terminado un ciclo nuevo de división y multiplicación, anulando el efecto bactericida de la vancomicina.

En cepas altamente resistentes hacia la vancomicina, se ha detectado el gen *vanA*. En la presencia de este gen se ha visto un reemplazo del residuo D-alanil-D-alanina por el D-alanil-D-lactato, evitando así la unión de la vancomicina con la pared celular (Cui *et al.* 2006).

En 1996, en Japón, fue reportado el primer caso de *S. aureus* con susceptibilidad reducida a vancomicina. Este aislamiento se obtuvo a partir de una infección, en sitio quirúrgico, de un paciente pediátrico, ocasionada por MRSA, donde recibió tratamiento con vancomicina para dicha infección. Al determinar la concentración mínima inhibitoria para vancomicina, se obtuvo un valor de 8 µg/mL, colocándose en la clasificación de intermedio según los valores de referencia de la NCCLS (Hiramatsu, 1997).

En junio del 2002, en Michigan, Estados Unidos, apareció en un paciente con diálisis el primer caso de resistencia debido a la determinante *vanA*; esta cepa también presentó resistencia a oxacilina, levofloxacina y rifampicina. En septiembre del 2002 se reportó el segundo caso, el cual fue aislado en Pennsylvania; este aislamiento presentó resistencia a vancomicina, aminoglucósidos, β-lactámicos, fluoroquinolonas, macrólidos y tetraciclinas; por otro lado, presentó susceptibilidad hacia linezolid, minociclina, quinupristin-dalfopristin, rifampicina, teicoplanina y trimetoprim-sulfametoxazol (Tenover *et al.*, 2004). Los dos aislamientos presentaron el elemento móvil genético Tn1546, el cual tiene presencia en enterococos, en los que codifica para altos niveles de resistencia a vancomicina. Al ser comparadas las regiones Tn1546 de ambas cepas, se determinó que los aislados correspondían a eventos genéticos independientes (Clark *et al.*, 2005).

Un tercer caso de resistencia hacia vancomicina se reportó en la ciudad de Nueva York, en el 2004; la esta cepa presentaba los genes *mecA* y *vanA*, los cuales otorgaron resistencia hacia oxacilina y vancomicina respectivamente. Este aislamiento demostró susceptibilidad hacia cloramfenicol, linezolid, minociclina, quinupristin-dalfopristin, rifampicina y trimetoprim-sulfametoxazol (Kacica & McDonald, 2004).

Con el tiempo, han surgido reportes de cepas de *S. aureus* con susceptibilidad reducida a glicopéptidos en regiones de Japón, Estados Unidos, Europa y Lejano Este. En los últimos años, los reportes de resistencia homogénea hacia la vancomicina continúan siendo raros; sin embargo, los reportes de resistencia heterogénea (hetero-VRSA) van en aumento. La mayoría de las cepas reportadas con susceptibilidad reducida a vancomicina, parecen provenir de infecciones preexistentes con cepas MRSA; asimismo, se les atribuye a fallas terapéuticas con vancomicina. Cepas hetero-VRSA se han reportado en España, Escocia, Hong Kong, Alemania y Grecia, entre otros países (Tenover, Biddle & Lancaster, 2001). Actualmente 6 cepas resistentes a vancomicina han sido reportadas (CMI > 32 µg/ml) y por lo menos 21 cepas intermedias (Wang *et al.* 2006).

4.7.4 Quinupristin-Dalfopristin

Los antibióticos del tipo estreptograminas son compuestos aislados de *Streptomyces pristinaespiralis*. Esta clase de antimicrobianos se divide en dos grupos: 1) miembros del grupo A, los cuales son compuestos macrolactonas cíclicos poliinsaturados; y 2) los del grupo B, que son compuestos hexadepsipéptidos cíclicos (Hershberger *et al.* 2004). Quinupristin-dalfopristin es una combinación de una estreptogramina B y una estreptogramina A respectivamente en una relación 30:70. Su actividad es mayor en conjunto que cada agente por separado (Eliopoulos, 2004).

Presenta actividad contra una amplia gama de bacterias Gram positivas con resistencia a otros fármacos. Debido a sus características dinámicas y cinéticas, este agente puede ser administrado en intervalos de 8 a 12 horas. No presenta ototoxicidad, nefrotoxicidad, supresión de médula ósea, o efectos adversos cardiovasculares. Los efectos secundarios graves que presenta de manera reversible son: artralgias, mialgias, e irritación venosa periférica (Manzella, 2001).

Ambos grupos de quinupristin-dalfopristin se unen a diferentes sitios en el dominio peptidiltransferasa de la subunidad 23S del ribosoma, e inhiben el alargamiento de la cadena peptídica en diferentes pasos. Los compuestos A y B son bacteriostáticos cuando se utilizan por separado, pero pueden actuar con sinergismo

cuando se combinan, tal que en algunos casos son bactericidas para bacterias Gram positivas (Haroche *et al.* 2003).

La resistencia a quimupristin-dalfopristin puede ocurrir por varios mecanismos: modificación enzimática del antibiótico, transporte activo o expulsión mediado por una proteína unidora de ATP, y por alteración del sitio blanco. Se requiere de un mecanismo por compuesto para que una cepa sea resistente. (Hershberger *et al.* 2004).

La resistencia para el compuesto B es mediada por la metilación de 23S ARN ribosomal, la cual confiere resistencia a macrólido-lincosamida-estreptogramina B (MLSB por sus siglas en inglés) cuando el gene *erm* es expresado constitutivamente. Otro mecanismo es la hidrólisis del compuesto mediante una lactonasa codificada por los genes *vgbA* y *vgbB*. Para el compuesto A, existe la inactivación mediante la acetilación y expulsión. En *S. aureus* se han descrito tres genes que codifican para acetiltransferasa, *vata*, *vatB* y *vatC*, y dos genes para bombas expulsoras, *vgaA* y *vgaB*. Los genes de resistencia de ambos compuestos se han localizado en los mismos plásmidos (Werner *et al.* 2001).

4.7.5 Linezolid

Las oxazolidinonas constituyen la primera clase nueva de antibióticos que ha sido introducida al mercado desde 1980. Un integrante sintético de esta clase es el linezolid, este agente fue el primer agente aprobado por la FDA para el tratamiento de infecciones por MRSA en más de 40 años. El primer reporte de resistencia a linezolid se realizó en julio de 2001, posteriormente un segundo se dio a conocer en Inglaterra (Meka & Gold, 2004).

El linezolid inhibe la síntesis de proteínas, previniendo la formación del complejo 70S del ribosoma (Narang & Gomber, 2004); específicamente se une al dominio V de 23S del ARNr de la subunidad ribosomal 50S (Meka & Gold, 2004). Estudios *in vitro* han demostrado que mutaciones puntuales en la subunidad 23S ARNr que dan lugar a resistencia a linezolid ocurren con una frecuencia de 1×10^{-9} a 1×10^{-11} (Grdinic, 2000)

La actividad de linezolid *in vitro* se considera bacteriostática en lugar de bactericida (Moellering Jr., 2003). En pacientes sí se observa actividad bactericida contra *S. aureus*, aunque la muerte celular puede ocurrir paulatinamente con el tiempo. Una de sus ventajas es que puede ser administrado tanto vía intravenosa como de forma oral (Eliopoulos, 2004).

4.7.6 Daptomicina

La daptomicina es un lipopéptido cíclico, producto de fermentación producido por *Streptomyces roseosporus*. Este compuesto actúa sobre las membranas citoplasmáticas de las bacterias y su actividad es dependiente de los niveles fisiológicos de iones calcio (Streit, Jones & Sader, 2004). Su mecanismo de acción consiste en una inserción de la cola lipofílica dentro de la membrana celular, causando una rápida despolarización de la membrana y una salida de iones potasio. Esto es seguido por un cese en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, resultando en la muerte celular (Steenbergen *et al.* 2005).

Este agente fue aprobado por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA por sus siglas en inglés) para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y para casos de bacteriemia, incluyendo endocarditis asociadas a *S. aureus*, tanto MSSA como MRSA (Jevitt *et al.* 2006). La daptomicina presenta actividad bactericida contra MRSA y *S. aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA). La CMI₉₀ de este compuesto ha sido de 2 a 4 veces menor en comparación a la de vancomicina para MRSA y MSSA. Su actividad no se ha visto modificada, debido a la presencia de multirresistencia por parte de *S. aureus* (Pharmacy Update, 2004).

El mecanismo de resistencia a daptomicina no se ha identificado plenamente, pero se cree que el engrosamiento de membrana en cepas resistentes a vancomicina, y los cambios metabólicos que hacen que estas membranas sean más gruesas, pueden tener algún efecto en la susceptibilidad disminuida hacia daptomicina (Jevitt *et al.* 2006).

En la actualidad empiezan a reportarse casos de adquisición de resistencia a daptomicina durante el transcurso del tratamiento en pacientes hospitalizados. El primer reporte se obtuvo en un paciente de 54 años, quien estaba bajo un tratamiento de un mes con daptomicina debido a la presencia de una bacteriemia por MRSA. Un total de 23 cultivos sanguíneos fueron obtenidos durante su tratamiento, donde en los primeros se pudo observar susceptibilidad hacia daptomicina. Posteriormente, en las últimas muestras tomadas se pudo observar una CMI de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lo que coloca a la bacteria como no susceptible para daptomicina. Otros agentes probados fueron vancomicina, linezolid y quinupristin-dalfopristin; la susceptibilidad a estos agentes permaneció durante el tratamiento; las cepas fueron resistentes a ciprofloxacina y eritromicina (Mangili *et al.* 2005).

Otro caso reportado involucró a un paciente de 61 años, en tratamiento debido a una bacteriemia por MRSA; tres meses después se suspendió la administración de daptomicina por la presencia de una cepa resistente. La cepa inicial presentaba susceptibilidad hacia vancomicina y linezolid, pero resistencia a eritromicina y levofloxacina. La CMI para daptomicina aumentó de 0.5-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, al inicio del tratamiento, a 2-4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a la suspensión de éste. La adquisición de resistencia durante el tratamiento se comprobó por electroforesis por campos pulsados, donde se pudo observar patrones moleculares idénticos entre la clona inicial y final (Marty *et al.* 2006).

Un tercer reporte sucedió en una paciente de 64 años de edad con diabetes mellitus, al ser tratada debido a una bacteriemia y artritis séptica por MRSA. La CMI obtenida fue de 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, superior al 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ establecido, por lo que fue clasificada como no susceptible. Esta paciente recibió tratamiento con daptomicina durante 28 semanas a lo largo de 2 años. Es posible que este tratamiento prolongado fuera un factor de riesgo para la adquisición de resistencia (Skiest, 2006).

4.8 Tratamiento antimicrobiano

Las cepas MSSA productoras de beta lactamasas son tratadas, de preferencia, por una penicilina semi-sintética (nafcilina, oxacilina vía intravenosa o dicloxacilina vía oral) en pacientes no alérgicos a la penicilina. Como alternativa se puede utilizar cefalosporinas de tercera generación (cefalexina vía oral o cefazolina vía intravenosa).

La vancomicina sólo debe usarse para tratar MSSA en pacientes alérgicos a la penicilina. Es preferible utilizarla en infecciones severas por MRSA y por vía intravenosa, debido a que vía oral no presenta buena absorción.

Linezolid es utilizado para tratar complicaciones de infecciones de piel y tejidos blandos, así como para neumonías. La daptomicina también es recomendada para infecciones en piel y tejidos blandos, pero no para infecciones respiratorias, ya que no presenta buena penetración en tejido pulmonar.

En caso de infecciones superficiales debidas a MRSA de adquisición comunitario, es aceptable utilizar fluoroquinolonas, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclinas y clindamicina. Las infecciones en articulaciones pueden ser tratadas con alguna quinolona junto con rifampina (Bamberger & Boyd, 2005).

Las infecciones, debido al uso de catéteres, se han prevenido cubriendo el catéter con algún antiséptico previo a su utilización. Lisostafina es una endopeptidasa que se ha visto que previene la colonización del catéter por cepas de *S. aureus*; su actividad se mantiene durante 4 días (Shah, Mond & Walsh, 2004).

En la tabla I, que se presenta en la siguiente página, se resume el tratamiento antimicrobiano a aplicar en las infecciones más comunes causadas por *S. aureus*, diferenciando para los casos de susceptibilidad y resistencia a meticilina.

TABLA I

Terapia para infecciones por *Staphylococcus aureus*

Tipo de infección	Antibiótico de elección	Antibiótico alternativo	Duración del tratamiento
Infecciones de piel simples			5 a 7 días
MSSA	Cefalexina, dicloxacilina	clindamicina	
MRSA	Clindamicina, trimetoprim / sulfametoxazol, linezolid	-----	
Infecciones graves de piel y tejidos blandos			2 a 4 semanas
MSSA	Nafcilina	Cefazolina, clindamicina	
MRSA	Vancomicina	Linezolid, daptomicina	
Bacteriemia			2 a 4 semanas
MSSA	Nafcilina	Cefazolina, vancomicina	
MRSA	Vancomicina	Linezolid, daptomicina	
Infecciones asociadas a catéter			2 semanas
MSSA	Nafcilina	Cefazolina, vancomicina	
MRSA	Vancomicina	Linezolid, daptomicina	
Osteomielitis			4 a 6 semanas
MSSA	Nafcilina, cefazolina	Clindamicina, quinolona mas rifampicina	
MRSA	Vancomicina	Linezolid, daptomicina	
Neumonía			10 a 14 días
MSSA	Nafcilina	Vancomicina, clindamicina	
MRSA	Vancomicina, linezolid	-----	

MSSA = *S. aureus* susceptible a meticilina, MRSA = *S. aureus* resistente a meticilina. Tabla adaptada de Bamberger & Boyd 2005.

5. MÉTODOS

5.1 Origen de las cepas

Las cepas de *S. aureus* se aislaron a partir de diferentes tipos de muestras (hemocultivos, urocultivos, catéteres, secreciones diversas, exudados, etc.), provenientes de pacientes internados en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). El número total de cepas obtenidas fue de 100, y éstas se obtuvieron en el periodo de diciembre del 2005 a mayo del 2006.

5.2 Identificación de *S. aureus*

Las cepas, previamente identificadas, se proporcionaron por el centro médico; y posteriormente, mediante la observación de la morfología típica de cocos en racimos Gram positivos y las pruebas bioquímicas catalasa y coagulasa, se confirmó su identificación en nuestro laboratorio (MacFaddin, 2003).

5.2.1 Catalasa

Método en portaobjeto.

1.- Con un asa bacteriológica, se recogió el centro de una colonia pura de un cultivo de 18 a 24 horas y se colocó sobre un portaobjeto de vidrio limpio.

2.- Se colocó una gota de H₂O₂ al 30% sobre la colonia en el portaobjeto.

No se debe invertir el orden del procedimiento, ya que pueden ocurrir resultados falsos positivos.

3.- La producción inmediata de burbujeo (liberación de gas), representa un resultado positivo.

5.2.2 Coagulasa

Prueba en tubo.

- 1.- En un tubo de ensaye, con 0.5 mL de caldo infusión cerebro corazón estéril, se le añadió una asada de una colonia aislada de una placa de agar nutritivo de 18 a 24 horas.
- 2.- Se le agregó 0.5 mL del reactivo de coagulasa y se rotó el tubo suavemente para lograr la suspensión de las bacterias.
- 3.- Se incubó a 35 ° C durante 4 horas y se observó cada 30 minutos.
- 4.- Al inclinar el tubo suavemente, se observa la formación de un coágulo, indicativo para prueba positiva.

Una vez identificadas las cepas como *S. aureus* en nuestro laboratorio, éstas se guardaron en refrigeración en tubos con agar nutritivo (BD Bioxon) hasta su próxima utilización.

5.3 Selección de cepas resistencia a Meticilina (Oxacilina)

Para la selección de cepas resistentes a metilina, se realizó la prueba de difusión en disco (Murray *et al.* 1999), utilizando los disco de oxacilina de 1 µg obtenidos de Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, England, los cuales se mantuvieron almacenados en congelación a -14° C.

Los viales conteniendo los discos se sacaron del congelador y, antes de usarse, se mantuvieron durante 1 a 2 horas a temperatura ambiente. Este procedimiento minimiza la cantidad de condensado que se forma cuando aire caliente toca los discos fríos.

5.3.1 Preparación del medio agar Mueller – Hinton

- 1.- El agar Mueller - Hinton (BD Bioxon) se preparó a partir del formulado comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
- 2.- Se vertió el agar en placas petri estériles de 150 mm de diámetro para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm.

3.- Las placas con agar se dejaron enfriar a temperatura ambiente y, en caso de no utilizarse el mismo día, se guardaron en refrigeración (2 - 8° C).

5.3.2 Estándar de turbidez para preparación del inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo, se utilizó el tubo 0.5 de la escala de McFarland. La absorbancia medida a 625 nm fue de 0.08 a 0.10, en un espectrofotómetro (Turner SP-830) que equivale a 5×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro.

5.3.3 Activación de la cepa

Previo a la preparación del inóculo, fue necesario activar la cepa a analizar, y esto se llevó a cabo de la siguiente forma:

1. La cepa mantenida en tubos con agar nutritivo a temperatura de refrigeración se dejó atemperar durante 1 a 2 h.
2. Una vez a temperatura ambiente, se inoculó un tubo con caldo nutritivo (BD Bioxon) y se incubó a 35 ° C por 24 h.
3. A partir de este tubo de caldo nutritivo, se inoculó una placa de agar nutritivo (BD Bioxon) y se incubó a 35 ° C por 24 h.
- 4.- A partir de esta placa de agar nutritivo con crecimiento bacteriano, fue que se preparó el inóculo.

5.3.4 Preparación del inóculo

Se utilizó el método directo de suspensión de colonias. A partir de colonias aisladas de un cultivo en placa de agar nutritivo de 18 a 24 horas, el inóculo se preparó haciendo una suspensión directa en solución salina al 0.85%. La suspensión se ajustó para igualar la turbidez del estándar 0.5 de McFarland, usando solución salina y un mezclador vórtex.

5.3.5 Inoculación de las placas

- 1.- Una vez preparado el inóculo, se utilizó un hisopo de algodón estéril, el cual se introdujo en la suspensión preparada anteriormente y se removió el exceso de líquido del hisopo.
- 2.- Se sembró la superficie de una placa con agar Müller-Hinton (BD Bioxon) mediante estriado del hisopo sobre toda la superficie estéril. Este procedimiento se repitió estriando 2 o más veces, girando la placa aproximadamente 60° cada vez para asegurar una distribución equilibrada del inóculo.

5.3.6 Prueba de sensibilidad a la oxacilina

- 1.- Los discos de oxacilina se colocaron sobre la superficie del agar inoculado. Cada disco se presionó hacia abajo para asegurar el contacto completo con la superficie del agar.
- 2.- Las placas se invirtieron y se colocaron en una incubadora a 35°C / 24 horas dentro de los 15 minutos después de colocar los discos.

5.3.7 Lectura de las placas e interpretación de los resultados

- Las placas se examinaron después de 18 a 24 horas de incubación. Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa, incluyendo el diámetro del disco. Las zonas se midieron hasta el próximo milímetro entero, como se muestra en la figura 1.



Figura 1. Interpretación de la técnica de difusión en disco.

- Las medidas de halos de inhibición se interpretaron siguiendo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (antes NCCLS) y se reportó como susceptible, intermedio o resistente (M100-S16. Wayne, PA: CLSI, 2006).

A partir de este momento se trabajó exclusivamente con cepas resistentes a meticilina.

5.4 Determinación de los patrones de resistencia antibiótica por el método E-Test

Las tiras E-test se obtuvieron de AB Biodisk, Solna, Sweden, conteniendo los siguientes agentes antimicrobianos: linezolid, teicoplanina, vancomicina, eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina, levofloxacina, quinupristin-dalfopristin y daptomicina.

La técnica E-test consiste en tiras de plástico no porosas, calibradas con valores de concentración mínima inhibitoria (CMI). Un gradiente de antibiótico predefinido es inmovilizado en la superficie opuesta a la escala de CMI. Cuando se coloca sobre el agar inoculado, el gradiente de antibiótico, establecido por debajo de la tira, permanece estable por un período que cubre los tiempos críticos de la mayoría de microorganismos sujetos al examen de susceptibilidad. Después del período de incubación, la elipse de inhibición resultante cruza la escala en la CMI. El gradiente predefinido provee una media precisa y acertada de la actividad antimicrobiana de los antibióticos.

La elaboración del medio agar Müller-Hinton (BD Bioxon), la preparación y estandarización del inóculo y la inoculación de las placas se realizaron de igual forma que en el caso de difusión en disco mencionado anteriormente.

5.4.1 Aplicación de las tiras E-test a las placas inoculadas

1.- La aplicación de las tiras sobre las placas con agar inoculado se realizó siguiendo las mismas recomendaciones que para el caso de difusión en disco y utilizando un molde de aplicación proporcionado por el proveedor.

2.- Las placas se invirtieron y se colocaron en una incubadora a 35° C / 24 horas dentro de los 15 minutos después de colocar las tiras.

5.4.2 Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Las placas se examinaron después de 18 a 24 horas de incubación. La lectura de las placas e interpretación de los resultados se llevaron a cabo como lo indica el productor (AB Biodisk, Solna, Sweden). Después del período de incubación, la elipse de inhibición resultante cruza la escala en la CMI, como se muestra en la figura 2.

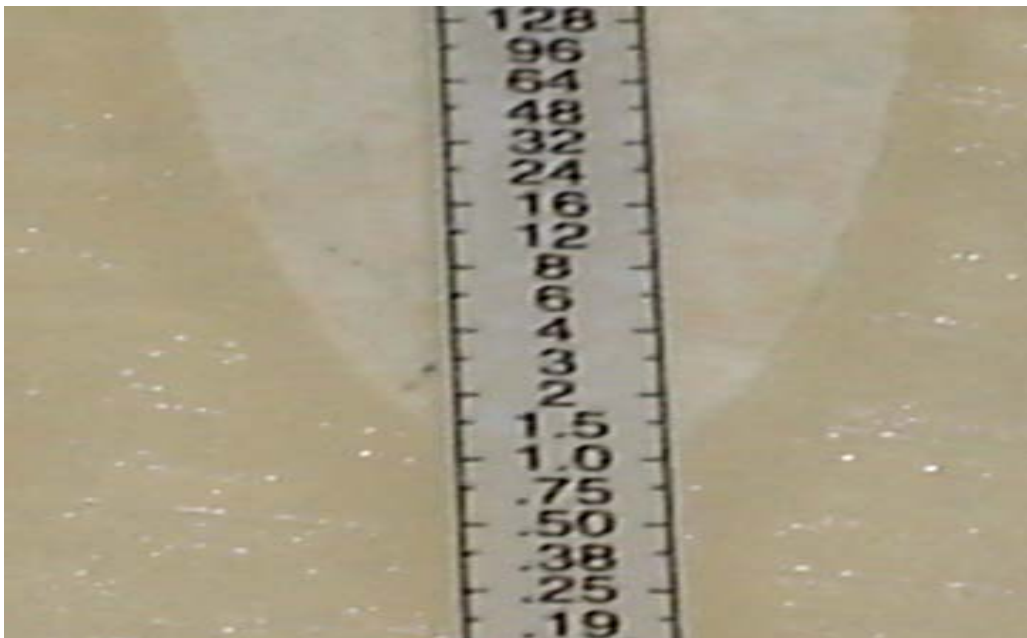


Figura 2. Interpretación de la técnica E-test. La CMI observada es de 1.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

5.5 Determinación de los patrones de resistencia antibiótica por el método de dilución en tubo

Los agentes antimicrobianos linezolid, teicoplanina, vancomicina, eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina se obtuvieron de las siguientes compañías comerciales: Sigma Chemical, Co. (St. Louis Mo), Aventis Pharmaceuticals, Inc. (Sommeret, NJ) y Lilly Research Lab (Indianápolis, Ind).

5.5.1 Preparación del medio caldo Müller – Hinton

- 1.- El caldo Müller – Hinton (DIFCO) se preparó a partir del medio comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
- 2.- Se vertió en tubos de ensayo, en volúmenes de 1 mL para cada tubo.

5.5.2 Preparación del antibiótico

Se prepararon soluciones stock de 256 µg/mL y de 96 µg/mL para los agentes teicoplanina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina; 2048 µg/mL y 1536 µg/mL para eritromicina y 64 µg/mL y 48 µg/mL para linezolid.

Para cada antibiótico se realizaron diluciones seriadas en tubos de ensayo con un mL de caldo Müller-Hinton (DIFCO) previamente añadido. El volumen final para cada tubo permaneció en 1 mL.

- 1.- Se enumeraron 10 tubos con un mL de caldo Müller-Hinton estériles.
- 2.- Se transfirió 1 mL del stock al primer tubo con el uso de una pipeta estéril y se mezcló.
- 3.- Con una pipeta diferente, se añadió un mL del tubo uno al tubo dos y se mezcló.
- 4.- Se continuó con el mismo procedimiento hasta obtener la dilución deseada; el mL restante fue descartado.

5.5.3 Estandarización y preparación del inóculo

- 1.- La estandarización y preparación del inóculo se llevaron a cabo de la misma forma que las dos técnicas anteriores.
- 2.- Una vez preparado el inóculo, éste fue diluido 1:100 con solución salina al 0.85% estéril, obteniéndose así un inóculo de 10^6 UFC/mL. Esta dilución se logró agregando 1 mL de inóculo a 99 mL de solución salina estéril.

5.5.4 Inoculación de los tubos

- 1.- Se tomó 1 mL de inóculo con 10^6 UFC/mL, y se le agregó a cada tubo con 1 mL del antibiótico en caldo Mueller-Hinton (DIFCO). El inóculo final para cada tubo fue de 5×10^5 UFC/mL.
- 2.- Los tubos se incubaron a 35°C por 24 horas.

5.5.5 Lectura de los tubos e interpretación de los resultados

Se tomó como CMI la concentración del agente antimicrobiano del tubo, donde se observó a simple vista la inhibición del crecimiento.

5.6 Determinación de la concentración mínima bactericida

La concentración mínima bactericida (CMB) se determinó para los antibióticos linezolid, vancomicina y teicoplanina. Los tubos que mostraron inhibición por la técnica de dilución en tubo fueron resembrados en placas con agar nutritivo (BD Bioxon) para determinar la CMB.

- 1.- Se sembró por estría cruzada, utilizando un asa bacteriológica un tubo por placa.
- 2.- Las placas se incubaron 35°C por 24 h.
- 3.- La concentración de la placa que no presentó crecimiento bacteriano fue registrada como la CMB.

5.7 Procedimiento estadístico

El tratamiento estadístico se llevó a cabo utilizando el software Statiscal Package for Social Sciences (SPSS). Se realizaron las pruebas de ANOVA, Tukey y Mann Whitney para determinar las diferencias significativas entre las técnicas de E-test y dilución en tubo.

6. RESULTADOS

6.1 Aislamiento e identificación.

Se lograron aislar 100 cepas, identificadas como *Staphylococcus aureus*. Su identificación se confirmó mediante la observación de su morfología bajo la tinción de Gram, resultando cocos en racimos Gram positivos, como se puede observar en la figura 3. También se realizaron las pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa. Las pruebas dieron resultado positivo al observarse la producción inmediata de burbujas en la prueba de catalasa y la producción de un coágulo en la prueba de coagulasa, como se presentan en la figura 4.



Figura 3. Cocos Gram positivos, 100 X. Identificación de *S. aureus*.



Figura 4. Prueba de catalasa (izquierda) y prueba de coagulasa (derecha). Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de *S. aureus*.

6.2 Resistencia a Oxacilina

La selección de cepas resistentes a meticilina se realizó mediante la prueba de difusión en disco (Murray *et al.* 1999). Las medidas de halos de inhibición se interpretaron siguiendo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI.

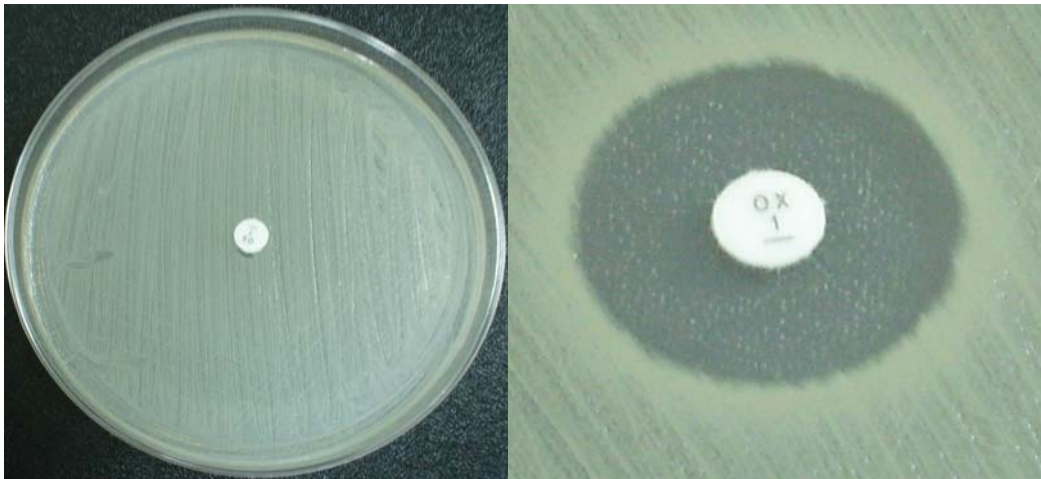


Figura 5. Criterio de interpretación de la técnica de difusión en disco para oxacilina. Un halo de inhibición ≤ 10 mm de diámetro es indicativo de resistencia.

Del total de 100 cepas de *S. aureus* aisladas, se obtuvo 59 % de resistencia a oxacilina.

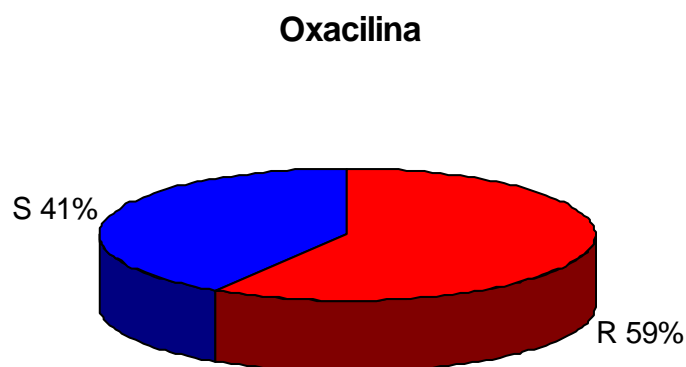


Figura 6. Resistencia hacia oxacilina obtenida mediante la técnica de difusión en disco. S: susceptibilidad, R: resistencia.

La interpretación de las técnicas E-test y dilución en tubo, así como su subsecuente clasificación en susceptible, intermedio y resistencia, se basó en los criterios establecidos por la CLSI y se presenta en la tabla II

TABLA II

Criterios de clasificación para los diferentes antimicrobianos.

Antimicrobiano	S <	I	R >
Linezolid	4	–	–
Teicoplanina	8	16	32
Quinupristin-dalfopristin	1	2	4
Vancomicina	4	8-16	32
Daptomicina	1	-	-
Eritromicina	0.5	1-4	8
Gatifloxacina	0.5	1	2
Ciprofloxacina	1	2	4
Levofloxacina	1	2	4

Valores expresados en µg/mL. S: susceptible, I: susceptibilidad intermedia, R: resistente

6.3 Determinación de los patrones de resistencia por el método E-test

La lectura de las placas e interpretación de los resultados se llevaron a cabo como lo indica el productor (AB Biodisk, Solna, Sweden).

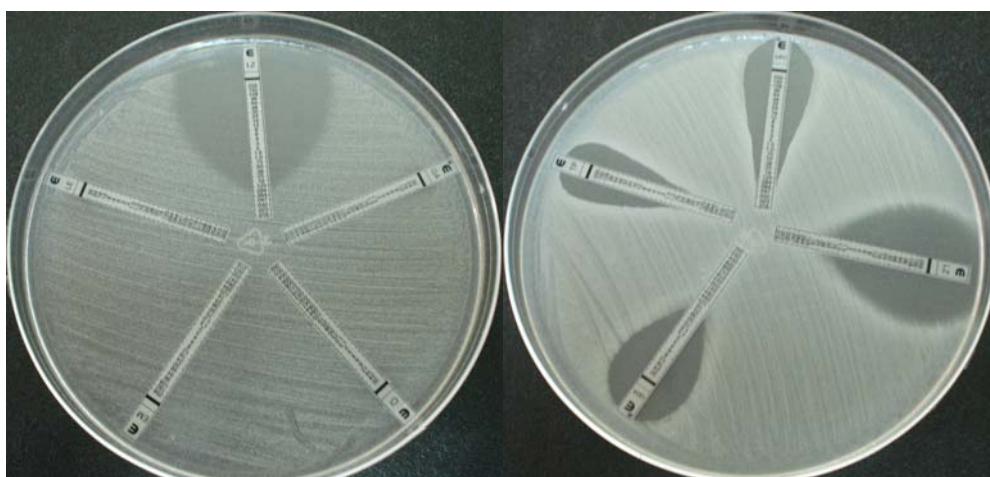


Figura 7. Visualización de las tiras E-test sobre las placas de agar Müller-Hinton, en las que se observa la elipse inhibitoria.

Los resultados de las concentraciones mínimas inhibitorias para las 59 cepas de MRSA obtenidos mediante la técnica de E-test se muestran en la tabla III.

TABLA III

Concentraciones mínimas inhibitorias para 9 agentes antimicrobianos obtenidos por E-test para 59 cepas de MRSA

Cepa	LZ	TP	VA	EM	GA	CI	LE	Q-D	DPC
1	1	1.5	2	>8	1.5	16	6	0.38	0.125
2	1	0.75	1	>8	1	2	2	1.5	2
3	0.75	0.50	1	>8	4	>4	>4	0.25	0.047
4	0.75	1	1.5	>8	8	>4	>4	0.38	0.125
5	1	1.5	1.5	>8	>2	>4	>4	0.38	0.25
6	1	1.5	1	>8	6	>4	>4	0.50	0.125
7	0.50	1	1	>8	6	>4	>4	0.38	0.064
8	1	1.5	0.75	>8	>2	>4	>4	0.25	0.19
9	0.50	1.5	1	>8	1	>4	3	0.38	0.125
10	0.75	1	1.5	>8	>2	>4	>4	0.38	0.125
11	1	1	0.75	>8	8	>4	>4	0.38	0.19
12	0.75	1.5	1.5	>8	1.5	>4	4	0.50	0.19
13	0.50	2	1	>8	>2	>4	>4	0.25	0.094
14	0.50	0.50	0.38	>8	3	>4	>4	0.25	0.047
15	0.50	0.50	0.5	0.094	0.047	0.19	0.094	0.19	0.064
16	1	1.5	1	>8	4	>4	>4	0.50	0.094
17	0.50	1	1	>8	3	>4	>4	0.50	0.094
18	1	1	0.5	>8	4	>4	>4	0.38	0.064
19	1	1.5	1	>8	6	>4	>4	0.25	0.125
20	0.75	1	0.75	0.125	0.047	0.19	0.094	0.19	0.047
21	1	1	0.75	>8	4	>4	>4	0.50	0.125
22	0.38	1	1	>8	2	>4	24	0.38	0.125
23	1	1	0.75	>8	8	>4	>4	0.38	0.094
24	0.50	1.5	1	>8	1.5	>4	4	0.38	0.19
25	0.75	0.50	0.19	>8	>2	>4	>4	0.25	0.047
26	0.75	1	0.75	>8	6	>4	>4	0.38	0.125
27	0.50	1	0.50	>8	8	>4	>4	0.25	0.064
28	0.75	1	0.75	>8	12	>4	>4	0.38	2
29	1	2	1	>8	4	>4	>4	0.38	0.125
30	0.75	2	1	>8	>2	>4	>4	1.5	2
31	0.75	2	1	>8	4	>4	>4	0.50	0.094
32	0.75	0.75	0.75	>8	6	>4	>4	0.38	0.125
33	0.75	1	0.75	>8	>2	>4	>4	0.38	0.094
34	0.50	1	0.5	>8	>2	>4	>4	0.25	0.094
35	0.75	1.5	0.75	>8	4	>4	>4	0.50	0.125
36	1	2	1	>8	6	>4	>4	0.38	0.19

TABLA III (continuación)

Cepa	LZ	TP	VA	EM	GA	CI	LE	Q-D	DPC
37	0.75	1.5	1	>8	6	>4	>4	0.38	0.19
38	0.50	2	1	>8	8	>4	>4	0.25	0.19
39	1	1	0.75	>8	8	>4	>4	0.38	0.19
40	0.38	0.75	0.75	>8	>2	>4	>4	0.25	0.094
41	0.50	2	0.75	>8	6	>4	>4	0.50	0.125
42	0.75	0.50	0.75	0.125	0.047	0.25	0.125	0.25	0.19
43	1	0.50	0.75	0.125	0.047	0.25	0.094	0.25	0.125
44	0.75	0.38	1.5	>8	>2	>4	>4	32	0.25
45	0.75	0.75	1	>8	8	>4	>4	0.38	0.19
46	0.25	0.75	0.50	>8	>2	>4	>4	0.38	0.064
47	0.38	2	0.75	>8	8	>4	>4	0.38	0.094
48	1	1	1	>8	3	>4	>4	0.25	0.25
49	0.75	0.75	1	>8	6	>4	>4	0.38	0.19
50	0.50	1.5	1	>8	6	>4	>4	0.25	0.125
51	0.38	1.5	0.75	>8	>2	>4	>4	0.25	0.125
52	0.50	1	1	>8	16	>4	>4	0.38	0.25
53	0.50	0.75	0.75	>8	6	>4	>4	0.25	0.125
54	0.25	0.75	0.50	>8	0.75	>4	4	0.19	0.064
55	0.38	0.38	0.50	0.094	0.023	0.19	0.064	0.125	0.094
56	0.25	0.38	0.38	>8	2	>4	16	0.125	0.094
57	0.38	1	1	>8	1	>4	3	0.25	0.125
58	0.50	2	1	>8	4	>4	>4	0.25	0.19
59	0.75	2	1.5	>8	3	>4	>4	0.25	0.25

Valores expresados en µg/mL. LZ: Linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina, Q-D: quinupristin-dalfopristin, DPC: daptomicina.

Para los agentes linezolid, teicoplanina y vancomicina, se obtuvo un 100 % de susceptibilidad. En la daptomicina, se observó un 95 % de cepas susceptibles y el 5 % restante con susceptibilidad intermedia, mientras que para el caso de quinupristin-dalfopristin se obtuvo igualmente un 95 % de susceptibilidad, un 3 % de susceptibilidad intermedia y un 2 % de resistencia. Se presentó un 92 % de cepas resistentes a eritromicina y un 8 % de organismos susceptibles. Se obtuvo un 80 % de resistencia a gatifloxacina, un 12 % de susceptibilidad intermedia y un 8 % de susceptibilidad a dicho agente. Para el antibiótico ciprofloxacina, se observó una resistencia de 90 %, de igual manera, se obtuvo un 2 % y 8% de susceptibilidad intermedia y susceptibilidad respectivamente. Por último, para el agente de

levofloxacin se observó un 87 % de resistencia, un 5 % de susceptibilidad intermedia y un 8 % de susceptibilidad. Los patrones de susceptibilidad obtenidos mediante la técnica de E-test se resumen en la figura 8.

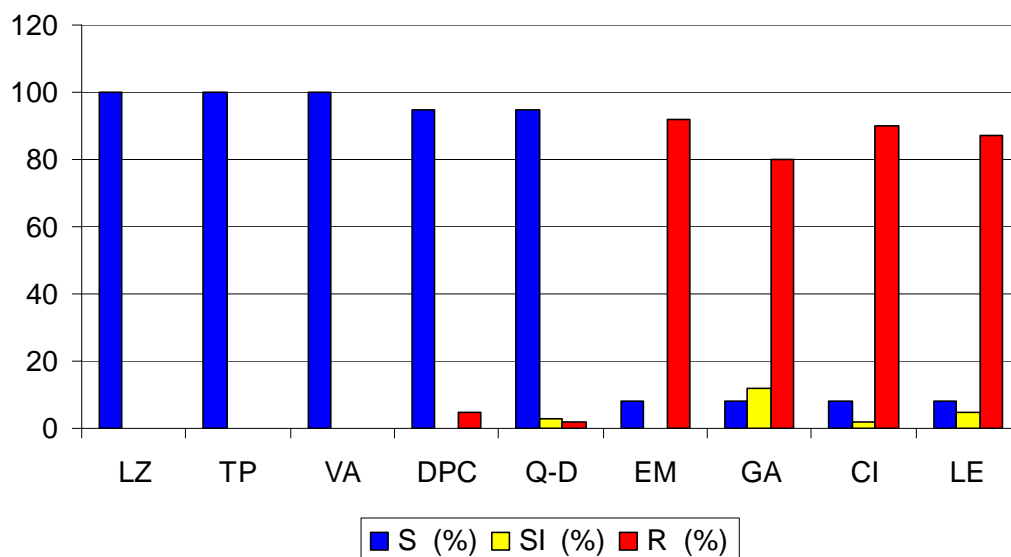


Figura 8. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos para los diferentes antibióticos mediante la técnica de E-test. S: susceptibilidad, SI: susceptibilidad intermedia, R: resistencia; LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, DPC: daptomicina, Q-D: quinupristin-dalfopristin, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina.

En los antibióticos linezolid, teicoplanina, vancomicina, daptomicina y quinupristin-dalfopristin se observó una CMI₉₀ (CMI a la cual el 90 % de cepas son inhibidas) muy por debajo del límite de susceptibilidad proporcionado por la CLSI. Mientras que el efecto contrario se observó para los agentes eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina, en donde los porcentajes de susceptibilidad se encuentran por debajo del 10 % y sus CMI₉₀ se encuentran muy por arriba del límite de susceptibilidad. La distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias obtenidas mediante la técnica de E-test se resume en la tabla IV, presentada en la página siguiente.

TABLA IV

Distribución de frecuencias de CMI de 9 agentes antimicrobianos determinados por E-test para 59 cepas de MRSA

A.A	N° de ocurrencias al CMI ($\mu\text{g} / \text{mL}$) de:																
	≤ 0.19	0.25	0.38	0.50	0.75	1	1.5	2	3	4	6	8	12	16	24	≥ 32	% S
LZ	0	3	6	15	19	16	0	0	0	0^a	0	0	0	0	0	0	100
TP	0	0	3	6	8	19	13	10	0	0	0	0^a	0	0	0	0	100
VA	1	0	2	7	18	24	6	1	0	0^a	0	0	0	0	0	0	100
DPC	51	5	0	0	0	0^a	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Q-D	5	19	24	8	0	0^a	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	95
EM	5	0	0	0^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54	8
GA	5	0	0	0^a	1	3	3	2	4	8	11	8	1	1	0	12	8
CI	3	2	0	0	0	0^a	0	1	0	0	0	0	0	1	0	52	8
LE	5	0	0	0	0	0^a	0	1	2	3	1	0	0	1	1	45	8

AA: agente antibiótico S: susceptibilidad, LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, DPC: daptomicina, Q-D: quinupristin-dalfopristin, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina

^a Límite de CMI aplicado por la CLSI para la susceptibilidad se muestra en negritas.

6.4 Determinación de los patrones de resistencia por el método de dilución en tubo

La metodología usada se basó en las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se tomó como CMI la concentración de antibiótico del tubo donde se observó a simple vista la inhibición del crecimiento; véase la figura 9.

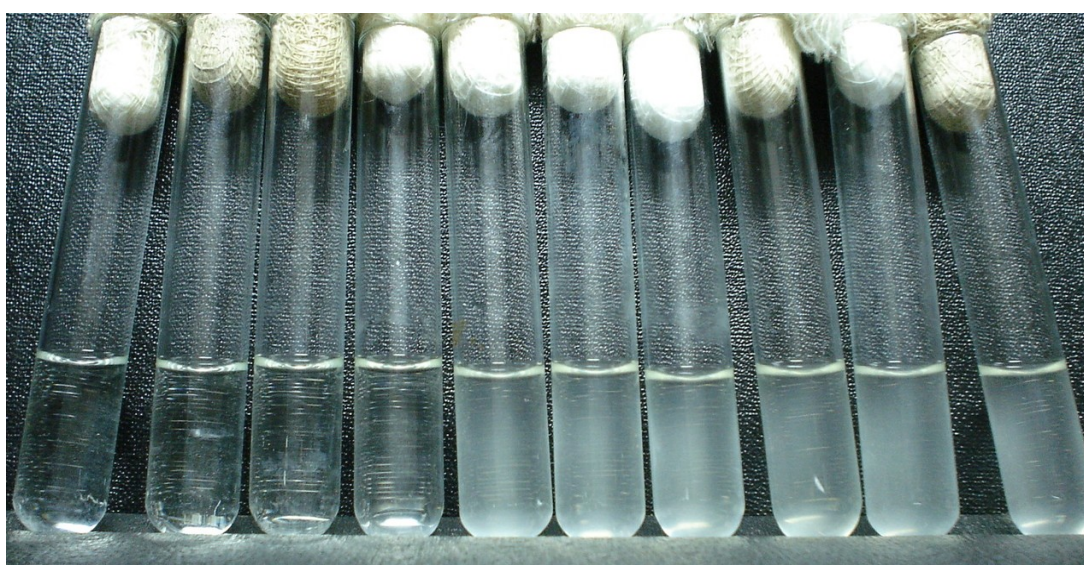


Figura 9. Determinación de la concentración mínima inhibitoria mediante la técnica de dilución en tubo. La concentración del tubo No. 4 de izquierda a derecha fue registrada como CMI.

Una vez que se determinó la CMI de cada cepa, también se determinó la CMB; los resultados obtenidos mediante la técnica de dilución en tubo se muestran en la tabla V.

TABLA V

Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y concentraciones mínimas bactericidas (CMB) obtenidas por dilución en tubo para 59 cepas de MRSA expresadas en $\mu\text{g/mL}$

Cepa	LZ		TP		VA		EM	GA	CI	LE
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMI	CMI	CMI
1	2	2048	0.09375	0.375	0.5	8	>8	3	16	6
2	1	2048	0.1874	768	0.5	1024	>8	2	2	4
3	3	1536	0.125	0.5	0.5	1	>8	8	>4	16
4	1.5	1536	0.125	0.5	0.375	3	>8	4	>4	16
5	2	16	0.09375	0.375	0.375	1.5	>8	>2	>4	>4
6	2	1024	0.1875	1.5	0.5	4	>8	12	>4	16
7	2	2048	0.125	4	0.5	1	>8	6	>4	32
8	2	2048	0.1875	1.5	0.375	3	>8	>2	>4	>4
9	2	2048	0.09375	0.75	0.25	4	>8	4	32	6
10	1.5	1536	0.125	4	0.375	6	>8	>2	>4	>4
11	2	2048	0.125	2	0.375	6	>8	4	>4	16
12	1.5	1536	0.1875	3	0.75	1.5	>8	6	32	8
13	2	512	0.125	1	0.5	16	>8	>2	>4	>4
14	2	1024	0.125	1	0.75	3	>8	6	>4	16
15	2	2048	0.5	1	1	2	0.1875	0.09375	3	0.1875
16	2	2048	0.09375	1.5	0.5	4	>8	4	>4	16
17	2	512	0.25	2	0.5	32	>8	12	>4	32
18	2	2048	0.125	1	0.5	2	>8	8	>4	16
19	2	1024	0.09375	0.375	0.5	16	>8	>2	>4	>4
20	1.5	1536	0.0625	0.25	0.375	3	0.25	0.09375	3	0.1875
21	2	2048	0.125	1	0.375	3	>8	8	>4	16
22	1.5	12	0.125	0.25	0.5	4	>8	8	32	12
23	2	2048	0.125	2	0.375	6	>8	16	>4	32
24	2	2048	0.1875	0.75	1	1	>8	3	16	4
25	1.5	768	0.125	0.5	0.375	3	>8	16	>4	32
26	1.5	1536	0.125	0.5	0.75	3	>8	12	>4	16
27	2	1024	0.125	0.5	0.5	2	>8	16	>4	32
28	1.5	1536	0.125	256	0.75	768	>8	>2	>4	>4
29	2	2048	0.25	1	0.5	16	>8	8	>4	32
30	1.5	1536	0.125	64	0.5	4	>8	32	>4	>4
31	3	1536	0.25	2	1	4	>8	8	>4	16
32	1.5	1536	0.1875	0.75	0.375	6	>8	12	>4	32
33	1.5	12	0.125	0.5	0.375	3	>8	16	>4	32
34	2	2048	0.125	2	0.5	4	>8	16	>4	>4
35	1.5	1536	0.1875	0.375	0.375	6	>8	4	>4	15
36	2	2048	0.25	1	0.25	4	>8	6	>4	15
37	1.5	1536	0.1875	0.375	0.5	4	>8	6	>4	15
38	2	2048	0.25	2	0.5	4	>8	8	>4	15
39	2	2048	0.25	0.25	0.375	1.5	>8	8	>4	15
40	1.5	768	0.1875	3	0.375	6	>8	16	>4	32
41	2	2048	0.25	4	0.375	6	>8	12	>4	16
42	1.5	1536	0.125	0.5	0.375	6	0.0625	0.375	0.125	1
43	4	2	0.25	2	0.75	1.5	0.25	0.046875	0.25	0.09375

TABLA V (continuación)

Cepa	LZ		TP		VA		EM	GA	CI	LE
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMI	CMI	CMI
44	1.5	1536	0.09375	24	0.75	384	>8	16	>4	>4
45	1.5	1536	0.375	1.5	0.5	2	>8	8	>4	16
46	2	8	0.1875	0.75	1	4	>8	>2	>4	>4
47	3	12	0.5	2	0.75	6	>8	8	>4	16
48	2	16	0.125	0.5	0.5	4	>8	6	>4	16
49	1.5	1536	0.375	1.5	0.5	8	>8	6	>4	16
50	2	16	0.1875	0.375	0.5	4	>8	12	>4	16
51	1.5	1536	0.1875	1.5	0.375	3	>8	16	>4	32
52	2	16	0.125	1	0.5	4	>8	16	>4	32
53	2	16	0.375	0.375	0.75	3	>8	6	>4	16
54	2	4	0.375	6	1	2	>8	3	32	4
55	3	1536	0.1875	12	0.5	2	0.09375	6	>4	8
56	2	16	0.375	1.5	0.75	3	>8	4	>4	16
57	3	12	0.25	1	0.5	2	>8	2	16	6
58	2	16	0.1	2	1	2	>8	8	>4	16
59	1.5	1536	0.75	3	0.75	3	>8	12	>4	16

LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina. CMI: concentración mínima inhibitoria, CMB:concentración mínima bactericida.

Los antibióticos linezolid, teicoplanina y vancomicina presentaron un 100 % de susceptibilidad. En la eritromicina se observó un 92 % de cepas resistentes y un 8 % de organismos susceptibles. Con gatifloxacina se obtuvo un 93 % de resistencia y un 7 % de susceptibilidad, sin presentarse susceptibilidad intermedia. Se presentó una resistencia de 92 % hacia ciprofloxacina así mismo se obtuvo un 5 % y 3% de susceptibilidad intermedia y susceptibilidad respectivamente. Por último, para el agente de levofloxacina se observó un 93 % de resistencia y un 7 % de susceptibilidad. Los porcentajes de susceptibilidad obtenidos mediante la técnica de dilución en tubo se presentan en la figura 10, mostrada a continuación.

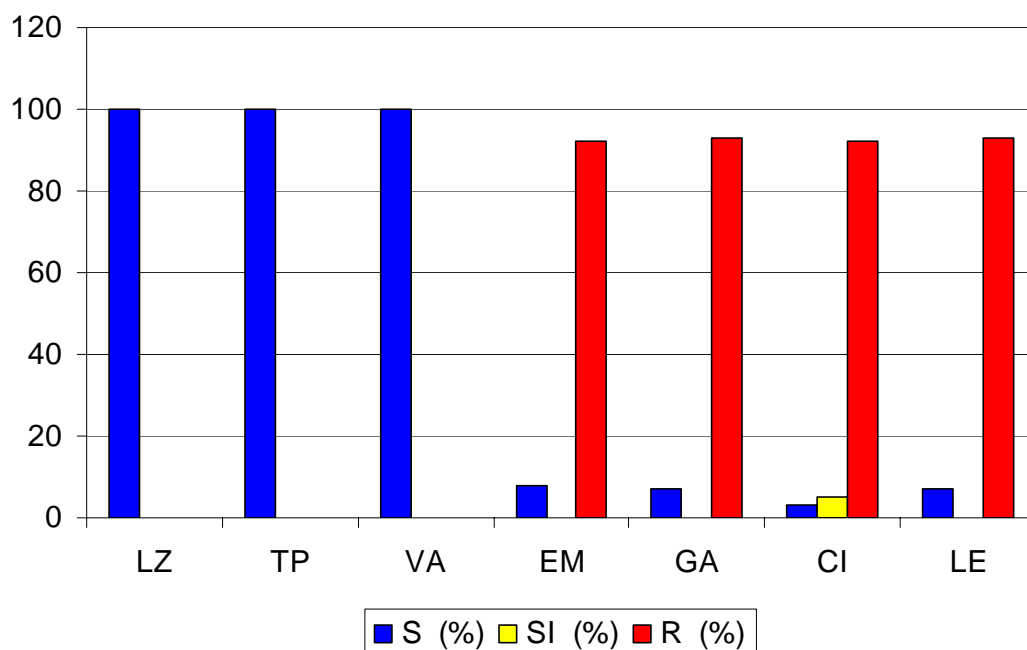


Figura 10. Porcentaje de susceptibilidad de las 59 cepas MRSA para los diferentes antibióticos obtenidos mediante la técnica de dilución en tubo. S: susceptibilidad, SI: susceptibilidad intermedia, R: resistencia; LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina.

Los antibióticos linezolid, teicoplanina, vancomicina presentaron un alto grado de susceptibilidad, se presentaron las CMI_{90} (CMI a la cual el 90 % de cepas son inhibidas) por debajo del límite de susceptibilidad establecido por la CLSI. Los compuestos eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina presentaron actividad nula contra MRSA, donde los porcentajes de susceptibilidad se encuentran por debajo del 8 % y sus CMI_{90} se encuentran superando los límites de susceptibilidad establecidos por la CLSI. La tabla VI resume las distintas concentraciones mínimas inhibitorias observadas a través de la técnica de dilución en tubo.

TABLA VI

Distribución de frecuencias de CMI de 7 agentes antimicrobianos determinados por el método de dilución en tubo para 59 cepas de MRSA.

AA	N° de ocurrencias al CMI ($\mu\text{g} / \text{mL}$) de:																
	≤ 0.19	0.25	0.38	0.50	0.75	1	1.5	2	3	4	6	8	12	16	24	≥ 32	% S
LZ	0	0	0	0	0	1	20	32	5	1^a	0	0	0	0	0	0	100
TP	42	9	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0^a	0	0	0	0	100
VA	0	2	17	24	10	6	0	0	0	0^a	0	0	0	0	0	0	100
EM	3	2	0	0^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54	8
GA	3	0	1	0^a	0	0	0	2	3	6	9	11	7	9	2	6	7
CI	1	1	0	0	0	0^a	0	1	2	0	0	0	0	3	1	50	3
LE	3	0	0	0	0	1^a	0	0	0	3	3	2	1	25	0	21	7

AA: agente antibiótico, S: susceptibilidad, LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina

^a Límite de CMI aplicado por la CLSI para la susceptibilidad se muestra en negritas

Al obtener la relación concentración mínima bactericida / concentración mínima inhibitoria (CMB/CMI) para los agentes de linezolid, teicoplanina y vancomicina, se observó el fenómeno de tolerancia por parte de algunas cepas. Para linezolid se observó un 76 % de tolerancia y un 12 % para los agentes teicoplanina y vancomicina. La tabla VII presenta la distribución de la relación CMB/ CMI de MRSA hacia estos tres agentes.

TABLA VII

Distribución de la relación CMB/CMI y porcentaje de tolerancia de 3 agentes antibióticos determinados por dilución en tubo para 59 cepas de MRSA.

A	N° de ocurrencias de CMB/CMI ($\mu\text{g} / \text{mL}$) de:							% T
	≤ 1	2	4	8	16	20	≥ 32	
LZ	1	1	3	9	0	0	45	76
TP	2	5	23	13	8	1	7	12
VA	1	7	14	18	12	0	7	12

A: antibiótico, T: tolerancia, LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina CMB: concentración mínima bactericida, CMI: concentración mínima inhibitoria

6.5 Análisis estadístico

El tratamiento estadístico se llevó a cabo utilizando el software Statistical Package for Social Sciences (SPSS). Se realizaron las pruebas de ANOVA, Tukey y Mann Whitney.

Para el antibiótico linezolid, se encontró que la CMI promedio fue mayor con el tratamiento de dilución en tubo (1.93 ± 0.50) que el de E-test (0.69 ± 0.24). La CMI promedio resultó menor por el método de dilución en tubo (0.20 ± 0.12) que por el de E-test (1.16 ± 0.51) para el agente teicoplanina. Igualmente, en el caso del antimicrobiano vancomicina, se observó una CMI promedio mayor para dilución en tubo (13.25 ± 68.34) que para E-test (0.90 ± 0.33). El mismo patrón fue observado para eritromicina, donde la CMI promedio resultó superior para la dilución en tubo (468.62 ± 143.77) que para E-test (234.31 ± 71.88). Se encontró una CMI promedio mayor para el tratamiento de dilución en tubo en los agentes gatifloxacina (13.69 ± 16.65) y ciprofloxacina (53.43 ± 20.95) que para el tratamiento de E-test de gatifloxacina (10.14 ± 11.53) y ciprofloxacina (28.53 ± 9.73). Por último, se obtuvo mayor CMI promedio para E-test (25.53 ± 12.14) que en dilución en tubo (24.52 ± 20.10) para el antimicrobiano levofloxacina. En la tabla VIII se presenta un resumen descriptivo de estos resultados.

El análisis de varianza de dos vías (antibiótico, tratamiento) para probar diferencias entre la variable CMI arrojó los siguientes resultados: se encontró diferencia altamente significativa entre las medias de CMI, debido a los antibióticos ($F = 848.02$, $p < 0.01$), así como para los tratamientos ($F = 138.78$, $p < 0.01$) y la interacción de ambos factores ($F = 96.65$, $p < 0.01$).

TABLA VIII

Estadísticas descriptivas de los diferentes antimicrobianos y su interacción con los métodos de E-test y dilución en tubo.

Antibiótico	Tratamiento	Media ± DE	N
LZ	E-test	.69 ± .24	59
	D-tubo	1.93 ± .50	59
	Total	1.31 ± .74	118
TP	E-test	1.16 ± .51	59
	D-tubo	.20 ± .12	59
	Total	.68 ± .61	118
VA	E-test	.90 ± .33	59
	D-tubo	13.25 ± . 68.34	59
	Total	7.07 ± 48.52	118
EM	E-test	234.31 ± 71.88	59
	D-tubo	468.62 ± 143.77	59
	Total	351.47 ± 163.25	118
GA	E-test	10.14 ± 11.53	59
	D-tubo	13.69 ± 16.65	59
	Total	11.92 ± 14.37	118
CI	E-test	28.53 ± 9.73	59
	D-tubo	53.43 ± 20.95	59
	Total	40.98 ± 20.51	118
LE	E-test	25.53 ± 12.14	59
	D-tubo	24.52 ± 20.10	59
	Total	25.02 ± 16.54	118
Total	E-test	43.04 ± 83.73	413
	D-tubo	82.23 ± 170.12	413
	Total	62.64 ± 135.42	826

LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina. N: Número de cepas, DE: desviación estándar. Análisis obtenido mediante ANOVA.

La tabla IX muestra la estadística descriptiva acerca de los diferentes antibióticos, mientras que la tabla X lo hace para el caso de cada uno de los tratamientos. Ambas tablas se presentan en la página siguiente.

Por último, utilizando la prueba de Mann Whitney, el agente gatifloxacina fue el único que presentó diferencias significativas en cuanto a los patrones de resistencia obtenidos mediante ambos métodos ($z = 2.01$, $p = 0.044$).

TABLA IX

Estadística descriptiva para los diferentes antibióticos

Antibiótico	Media	Error Estándar	Tukey *
LZ	1.312	4.401	a
TP	.681	4.401	a
VA	7.073	4.401	a b
EM	351.470	4.401	d
GA	11.916	4.401	a b
CI	40.978	4.401	c
LE	25.025	4.401	c b

LZ: linezolid, TP: teicoplanina, VA: vancomicina, EM: eritromicina, GA: gatifloxacina, CI: ciprofloxacina, LE: levofloxacina. * Letras diferentes marcan diferencia significativas. Análisis obtenido mediante ANOVA y prueba de Tukey

TABLA X

Estadística descriptiva para los dos tratamientos

Tratamiento	Media	Error Estándar	Comparación *
E-test	43.039	2.353	a
D-tubo	82.234	2.353	b

* Letras diferentes marcan diferencia significativas
Análisis obtenido mediante ANOVA y prueba de Tukey

7. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio arrojaron un 59 % de resistencia a oxacilina (CMI mayor de 4 µg/mL). Este valor se encuentra por arriba de la mayoría de los reportes a nivel mundial; es superior al promedio de 20% reportado por Tiermersma y colaboradores (2004) para 27 países de Europa. En este estudio, los países con mayor incidencia de MRSA tuvieron como máximo un 45 %, mientras que los de menor incidencia presentaron menos del 1 %; asimismo, se encuentra por arriba de los índices más altos reportados por LeBlanc y colaboradores (2006) para Canadá, los cuales han sido de un 30 % aproximadamente. También se encuentra muy por arriba de otros reportes hechos por Velázquez-Meza y colaboradores (2004) de otras instituciones de salud mexicanas, en las que documentan hasta un 15 % de resistencia a oxacilina. Sin embargo, existen algunas regiones del mundo con mayores porcentajes de resistencia. Tal es el caso de lo reportado por Kim y colaboradores (2004) en Corea, que ha documentado índices de 64 %, y el caso de Taiwan, donde Hsueh y colaboradores (2004) obtuvieron hasta un 77 % de resistencia.

Para los antimicrobianos linezolid, teicoplanina y vancomicina, no se presentó diferencia alguna en sus patrones de resistencia mediante las técnicas de E-test y dilución en tubo. El resultado en común fue el de 100 % de susceptibilidad, ya que ningún valor de CMI pasó los límites de susceptibilidad establecidos, los cuales son de 4 µg/mL para linezolid y vancomicina, y de 8 µg/mL para teicoplanina. Estas tasas de susceptibilidad concuerdan con gran parte de los reportes a nivel mundial, donde se reporta escasa o nula resistencia a estos agentes. Entre los diversos reportes de susceptibilidad total hacia estos agentes, tenemos que en Corea, Kim y colaboradores (2004) obtuvieron 0 % de resistencia a linezolid, teicoplanina y vancomicina, asimismo, De Sousa y colaboradores (2001) reportan para 5 países de Latinoamérica, entre ellos México, 100 % de susceptibilidad para vancomicina y teicoplanina. El mismo porcentaje de susceptibilidad a estos glicopéptidos se observó en Holanda, donde fue reportado por Diederer y colaboradores (2006), en la

provincia de KwaZulu-Natal de Sudáfrica, reportado por O Shittu y Lin (2006), y en el Líbano, como lo reporta Kanj y colaboradores (2004). A pesar de las bajas incidencias en resistencia reportadas alrededor de mundo, existen casos bien documentados de resistencia a estos agentes. El primero de estos reportes de resistencia a vancomicina se hizo en Japón, por Hiramatsu (1997). Posteriormente, Tenover y colaboradores (2004) reportaron cepas resistentes en los Estados Unidos; de igual forma lo hicieron Kacica y McDonald (2004). Resistencia para linezolid ha sido reportada en Inglaterra por Meka y Gold (2004).

Los resultados obtenidos para daptomicina y quinupristin-dalfopristin fueron de un 95 % de susceptibilidad. Estos índices son similares a la mayoría de los reportes a lo largo de las diversas regiones del mundo. En el caso de quinupristin-dalfopristin, existen diversos reportes del 100 % de susceptibilidad, entre estos se encuentra el realizado por Wootton y colaboradores (2002), en donde se observó este patrón de susceptibilidad en Francia, Suecia, EU, Inglaterra y Japón. Otros reportes, son el realizado por Kim y colaboradores (2002), en Corea, y por De Sousa y colaboradores (2001), en Argentina, Brasil, Chile, Uruguay y México. En Taiwan, Hsueh y colaboradores (2004) reportan un 95 % de susceptibilidad para quinupristin-dalfopristin, mientras que en Polonia, Matynia y colaboradores (2005) reportan un 91 % de susceptibilidad a dicho agente.

Debido al uso reciente del antimicrobiano daptomicina, hoy en día no existen muchos reportes acerca de su actividad frente a MRSA. Los pocos reportes que existen mencionan gran efectividad de este agente, tal y como lo hace Diederer y colaboradores (2006), donde obtuvieron un 100 % de susceptibilidad. Sin embargo, y a pesar de su novedad, ya existen reportes de su no susceptibilidad. Un primer caso es reportado por Mangili y colaboradores (2005), en el cual las CMI finales fueron de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Un segundo y tercer caso fueron reportados por Marty y colaboradores (2006) y por Skiest (2006); en ambos casos las CMI finales fueron de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, superando el 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ establecido como límite de la susceptibilidad. Las CMI obtenidas en nuestro trabajo fueron de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por lo que esas cepas también fueron clasificadas como no susceptibles sin atreverse a establecerlas como resistentes.

Los patrones de resistencia obtenidos para eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina fueron ligeramente mayores al ser determinados por la técnica de dilución en tubo en comparación con la técnica de E-test. Mediante la técnica de dilución en tubo, los índices de resistencia oscilaron entre 92 y 93 %, mientras que para la técnica de E-test, se obtuvo 80 % para gatifloxacina, 87 % para levofloxacina, 90 % para ciprofloxacina y 92 % para eritromicina. Esta variación se debe probablemente a la especificidad superior de la técnica de dilución en tubo sobre la de E-test, en donde se observó que las cepas que presentaron susceptibilidad intermedia mediante esta técnica, no lo hicieron para la de dilución en tubo; en su lugar se presentó el fenómeno de resistencia en dichas cepas. Los límites de las CMI, establecidos para seleccionar a estos agentes como resistentes, son de 8 µg/mL para eritromicina, 2 µg/mL para gatifloxacina y 4 µg/mL para ciprofloxacina y levofloxacina.

Los porcentajes de resistencia obtenidos mediante ambas técnicas son comparables con los existentes hoy en día. En la ciudad de Chicago, Seal y colaboradores (2003) reportan índices de resistencia por arriba del 60 % para los agentes eritromicina y ciprofloxacina. Por su parte, en la ciudad de Los Ángeles, Wang y colaboradores (2006) reportan resistencias superiores al 90 % para dichos antimicrobianos. En algunos reportes se puede observar la ineficiencia total de estos agentes. Tal es el caso del trabajo realizado por Wootton y colaboradores (2002), en el cual obtuvieron índices de resistencia desde el 96 hasta el 100 % para los agentes eritromicina, ciprofloxacina y levofloxacina. Styers y colaboradores (2006) reportan resistencia del 99 % para ciprofloxacina y eritromicina. Sin embargo, también existen regiones donde estos antimicrobianos aún presentan mayor actividad frente a MRSA que la observada en nuestro trabajo. Matynia y colaboradores (2005) reportan que en Polonia se observó una resistencia para eritromicina y ciprofloxacina del 68 % y 58 % respectivamente. Por otro lado, en Taiwán, Hsueh y colaboradores (2004) reportan resistencia a gatifloxacina del 3 % y a levofloxacina del 57 %. En Sudáfrica, O Shittu y Lin (2006) obtuvieron un 18 % de resistencia hacia ciprofloxacina. Por último, aún existen lugares donde la resistencia es mínima y los agentes bien se pueden continuar utilizando sin mayor problema. Kesah y colaboradores (2003) reportan susceptibilidad del 95 % para ciprofloxacina en distintas regiones de África, mientras que De Sousa y colaboradores (2001) han

reportado el 100 % de susceptibilidad a ciprofloxacina y eritromicina en hospitales mexicanos.

Estos porcentajes de resistencia tan elevados pueden deberse a que estos antimicrobianos se han venido empleando por más tiempo. En el caso particular de las quinolonas, como gatifloxacina, levofloxacina y ciprofloxacina, siempre existe la posibilidad de resistencia cruzada, ya que las cepas MRSA comparten mecanismos de resistencia para estos agentes.

Al determinar la relación CMB/CMI para los antimicrobianos de linezolid, teicoplanina y vancomicina, se observó sus porcentajes de tolerancia con base en un CMB/CMI mayor de 32 µg/mL. Un 76 % de tolerancia obtenido hacia linezolid se explica con la noción que este agente presenta efecto bacteriostático y no bactericida frente a MRSA. Para los glicopéptidos se observó un 12 % de tolerancia. Este fenómeno se ha visto en otras instituciones. Tal es el caso reportado por Wang y colaboradores (2006), en el cual, en un período de 4 años, se presentó un aumento en las CMI para vancomicina. Asimismo Sader y colaboradores (2006) reportan que aproximadamente un 10 % de las cepas MRSA estudiadas en sus investigaciones presentaron tolerancia hacia vancomicina. Los altos índices de tolerancia pueden llegar a complicar el tratamiento aun siendo susceptible la bacteria al agente aplicado, por lo que es de importancia el monitorear de forma constante no sólo los patrones de susceptibilidad sino los índices de tolerancia también.

La resistencia antimicrobiana es un problema que no presenta solución a corto plazo, por lo que es de suma importancia el uso correcto de los antibióticos y el darle seguimiento adecuado al paciente bajo tratamiento. Como se ha venido observando a lo largo de los años en todas las investigaciones, el fenómeno de resistencia continúa avanzando e inhabilitando cada vez más agentes antimicrobianos para ser usados en el combate de las infecciones. En la actualidad existe un grupo muy selecto de agentes activos contra MRSA, pero reportes de resistencia hacia estos compuestos dan luz de alerta para que todo el personal clínico tenga las precauciones necesarias y evitar al máximo la adquisición y diseminación masiva de resistencia.

8. CONCLUSIONES

1.- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina se encontró en un porcentaje superior al 50 % de los casos, en el interior de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) # 25 IMSS

2.- Los agentes linezolid, teicoplanina, vancomicina, daptomicina y quinupristin-dalfopristin fueron los de mayor actividad en contra de MRSA, obteniéndose porcentajes de susceptibilidad de 95 % para daptomicina y quinupristin-dalfopristin, y de 100 % para linezolid, teicoplanina y vancomicina; mientras que los agentes eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina y levofloxacina fueron los menos eficientes, con índices de resistencia de 92 %, 80 % - 93 %, 90 % - 92%, y 87 % - 93 % respectivamente.

3.- Existe una tolerancia de un 12% hacia los antimicrobianos de último recurso contra MRSA, como lo son vancomicina y teicoplanina.

4.- Los resultados obtenidos mediante la técnica de E-test tienen correlación con los obtenidos mediante la dilución en tubo en la determinación de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana para cepas de MRSA.

9. LITERATURA CITADA

Andriole VT. 2005. The Quinolones: Past, Present, and Future. *Clinical Infectious Diseases*. **41** (Suppl 2):S113–S119

Archer GL. 1998. *Staphylococcus aureus*: A Well-Armed Pathogen. *Clinical Infectious Diseases*. May. **26**:1179–1181

Bamberger DM, Boyd SE. 2005. Management of *Staphylococcus aureus* Infections. *American Family Physician*. Dic. **72**(12):2474-2481.

Belkum A, Verbrugh H. 2001. 40 years of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA is here to stay—but it can be controlled. *BMJ*. Sept. **323**:644–645

Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, Wren MWD. 2005. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Nov. **56**:1000–1018

Campion JJ, McNamara PJ, Evans ME. 2004. Evolution of Ciprofloxacin-Resistant *Staphylococcus aureus* in In Vitro Pharmacokinetic Environments. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. Dec. **48**(12):4733–4744

Cardo D, Horan T, Andrus M, Dembinski M, Edwards J, Peavy G, Tolson J, Wagner D. 2004. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am. J. Infect. Control*. Dic. **32**(8):470–485.

Clark NC, Weigel LM, Patel JB, Tenover FC. 2005. Comparison of Tn1546-Like Elements in Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Michigan and Pennsylvania., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, January, **49** (1): 470-472.

Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. 2005. The Impact Of Methicillin Resistance In *Staphylococcus aureus* Bacteremia On Patient Outcomes: Mortality, Length Of Stay, And Hospital Charges. *Infection Control And Hospital Epidemiology*. Feb. **26**(2):166-174

Courvalin P. 2006. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clinical Infectious Diseases*. **42**:(Suppl 1)S25–S34

Cui L, Iwamoto A, Lian J-Q, Neoh H-m, Maruyama T, Horikawa Y, Hiramatsu K. 2006. Novel Mechanism of Antibiotic Resistance Originating in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Feb. **50**(2):428–438

Dajcs JJ, Thibodeaux BA, Marquart ME, Girgis DO, Traidej M, O’Callaghan RJ. 2004. Effectiveness of Ciprofloxacin, Levofloxacin, or Moxifloxacin for Treatment of Experimental *Staphylococcus aureus* Keratitis. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. June. **48**(6):1948–1952

De Sousa MA, Miragaia M, Sanches IS, Avila S, Adamson I, Casagrande ST, Brandileone MCC, Palacio R, Dell’acqua L, Hortal M, Camou T, Rossi A, Velazquez-Meza ME, Echaniz-Aviles G, Solorzano-Santos F, Heitmann I, De Lencastre H. 2001. Three-Year Assessment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in Latin America from 1996 to 1998. *Journal Of Clinical Microbiology*. June. **39**(6):2197–2205

Denis O, Nonhoff C, Byl B, Knoop C, Bobin-Dubreux S, Struelens MJ. 2002. Emergence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a Belgian hospital: microbiological and clinical features, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; **50**: 383–391.

Deresinski S. 2005. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolutionary, Epidemiologic, and Therapeutic Odyssey. *Clinical Infectious Diseases*. Feb. **40**:562–573

Deshpande LM, Fix AM, Pfaller MA, Jones RN, SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Participants Group. 2002. Emerging elevated mupirocin resistance rates among staphylococcal isolates in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000): correlations of results from disk diffusion, Etest and reference dilution methods., *Diagn Microbiol Infect Dis.*, Apr;**42**(4):283-90.

Diederens BMW, van Duijn I, Willemse P, Kluytmans JAJW. 2006. In Vitro Activity of Daptomycin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Including Heterogeneously Glycopeptide-Resistant Strains. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, Sept. **50**(9):3189–3191

Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M, SENTRY Participants Group, 2001. Survey of Infections Due to *Staphylococcus* Species: Frequency of Occurrence and Antimicrobial Susceptibility of Isolates

Collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999, *Clinical Infectious Diseases*; **32**(Suppl 2):S114–32.

Diekema DJ, BootsMiller BJ, Vaughn TE, Woolson RF, Yankey JW, Ernst EJ, Flach SD, Ward MM, Franciscus CLJ, Pfaller MA, Doebbeling BN. 2004. Antimicrobial Resistance Trends and Outbreak Frequency in United States Hospitals. *Clinical Infectious Diseases*. Jan. **38**:78–85

Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan, **13**(1):16–34

Eliopoulos GM. 2004. Current and new antimicrobial agents. *American Heart Journal*. April. **147**(4):587–92

Foster TJ. 2004. The *Staphylococcus aureus* “superbug”, *The Journal of Clinical Investigation*. Dec, **114**(12):1693–1696

Graham III PL, Lin SX, Larson EL. 2006. A U.S. Population-Based Survey of *Staphylococcus aureus* Colonization. *Annals of Internal Medicine*. Mar. **144**(5):318–325

Grdinic M. 2000. Pharmacotherapy Perspectives Linezolid (Zyvox® - Pharmacia & Upjohn). *Journal of the Pharmacy Society of Wisconsin*. July-Aug.:35-40

Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA. 2002. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. *Postgrad. Med. J.* **78**:385-392.

Hanselman BA, Kruth SA, Rousseau J, Low DE, Willey BM, McGeer A, Weese JS. 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Colonization in Veterinary Personnel. *Emerging Infectious Diseases*. Dec. **12**(12):1933-1938

Haroche J, Morvan A, Davi M, Allignet J, Bimet F, Solh NE. 2003. Clonal Diversity among Streptogramin A-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Collected in French Hospitals. *Journal Of Clinical Microbiology*. Feb. **41**(2):586–591

Hershberger E, Donabedian S, Konstantinou K, Zervos MJ. 2004. Quinupristin-Dalfopristin Resistance in Gram-Positive Bacteria: Mechanism of Resistance and Epidemiology. *Clinical Infectious Diseases*. Jan. **38**:92–98

Hiramatsu K. 1997. Reduced Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Vancomycin — Japan, 1996, *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report*, July, **46** (27):624-626

Hooper DC. 2001. Mechanisms of Action of Antimicrobials: Focus on Fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*. **32**(Suppl 1):S9-S15

Hsueh P-R, Teng L-J, Chen W-H, Pan H-J, Chen M-L, Chang S-C, Luh K-T, Lin F-Y. 2004. Increasing Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Causing Nosocomial Infections at a University Hospital in Taiwan from 1986 to 2001. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. Apr. **48**(4):1361-1364

Huang Y-C, Su L-H, Wu T-L, Liu C-E, Young T-G, Chen P-Y, Hsueh P-R, Lin T-Y. 2004. Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan, *Journal Of Clinical Microbiology*, Jan., **42** (1): 307-310.

Jevitt LA, Thorne GM, Traczewski MM, Jones RN, McGowan Jr JE, Tenover FC, Brown SD. 2006. Multicenter Evaluation of the Etest and Disk Diffusion Methods for Differentiating Daptomycin-Susceptible from Non-Daptomycin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolates. *Journal Of Clinical Microbiology*, Sept. **44**(9):3098-3104

Johnson AP, Pearson A, Duckworth G. 2005. Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Jul. **56**:455-462

Jones RN. 2006. Microbiological Features of Vancomycin in the 21st Century: Minimum Inhibitory Concentration Creep, Bactericidal/Static Activity, and Applied Breakpoints to Predict Clinical Outcomes or Detect Resistant Strains. *Clinical Infectious Diseases*. **42**(Suppl 1):S13-S24

Kacica M, McDonald LC. 2004. Brief Report Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* — New York, 2004, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **53** (15):322-323.

Kanj SS, Ghaleb PA, Araj GF. 2004. Glycopeptide and oxacillin activity against *Staphylococcus aureus* isolates at a tertiary care center in Lebanon., *J Med Liban*. Jan-Mar; **52**(1):8-12.

Katayama Y, Zhang H-Z, Chambers HF. 2004. PBP 2a Mutations Producing Very-High-Level Resistance to Beta-Lactams. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. Feb. **48**(2):453-459

Kesah C, Ben Redjeb S, Odugbemi TO, Boye CS, Dosso M, Ndinya Achola JO, Koulla-Shiro S, Benbachir M, Rahal K, Borg M. 2003. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta., *Clin Microbiol Infect*, **9**(2):153-6.

Kim HB, Jang H-C, Nam HJ, Lee YS, Kim BS, Park WB, Lee KD, Choi YJ, Park SW, Oh M, Kim E-C, Choe KW. 2004. In Vitro Activities of 28 Antimicrobial Agents against *Staphylococcus aureus* Isolates from Tertiary-Care Hospitals in Korea: a Nationwide Survey. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. Apr. **48**(4):1124–1127

Kipp F, Becker K, Peters G, Von Eiff C. 2004. Evaluation of Different Methods To Detect Methicillin Resistance in Small-Colony Variants of *Staphylococcus aureus*, *Journal Of Clinical Microbiology*, Mar., **42** (3): 1277–1279.

Klevens RM, Morrison MA, Fridkin SK, Reingold A, Petit S, Gershman K, Ray S, Harrison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM, Craig AS, Fosheim G, McDougal LK, Tenover FC. 2006. Community-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Healthcare Risk Factors. *Emerging Infectious Diseases*. Dec. **12**(12):1991-1993

Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC. 2006. Prevalence of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in the United States, 2001–2002. *The Journal of Infectious Diseases*. Jan. **193**:172–9

LeBlanc L, Pépin J, Toulouse K, Ouellette M-F, Coulombe M-A, Corriveau M-P, Alary M-E. 2006. Fluoroquinolones and Risk for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Canada. *Emerging Infectious Diseases*. Sept. **12**(9):1398-1405

Lowy FD. 1998. *Staphylococcus aureus* Infections, *The New England Journal of Medicine*, August 20, **339** (8): 520-532.

Lowy FD. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*, *The Journal of Clinical Investigation*, **111**:1265–1273.

Luong TT, Lee CY. 2002. Overproduction of Type 8 Capsular Polysaccharide Augments *Staphylococcus aureus* Virulence. *Infection And Immunity*. July. **70**(7):3389–3395

MacFaddin, JF. 2003. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3 ed. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 103-104

Mangili A, Bica I, Snyderman DR, Hamera DH. 2005. Daptomycin-Resistant, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*. April. **40**:1058–60

Manzella JP. 2001. Quinupristin-Dalfopristin: A New Antibiotic for Severe Gram-Positive Infections, *American Family Physician*, December 1, **64** (11).

Marín M, Gudio F. 2003. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. **21**(1):42-55

Marty FM, Yeh WW, Wennersten CB, Venkataraman L, Albano E, Alyea EP, Gold HS, Baden LR, Pillai SK. 2006. Emergence of a Clinical Daptomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolate during Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Osteomyelitis. *Journal of Clinical Microbiology*, Feb. **44**(2):595–597

Matynia B, Młodzinska E, Hryniewicz W. 2005. Antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* in Poland obtained by the National Quality Assurance Programme. *Clin Microbiol Infect*. May. **11**(5):379–385

McClelland RS, Fowler Jr VG, Sanders LL, Gottlieb G, Kong LK, Sexton DJ, Schmader K, Lanclos KD, Corey R. 1999. *Staphylococcus aureus* bacteremia among elderly vs younger adult patients: comparison of clinical features and mortality., *Arch Intern Med*., Jun 14; **159**(11):1244-7.

Meka VG, Gold HS. 2004. Antimicrobial Resistance to Linezolid. *Clinical Infectious Diseases*. Oct. **39**:1010–1015

Moellering Jr RC. 2003. Linezolid: The First Oxazolidinone Antimicrobial. *Annals of Internal Medicine*. Jan. **38**(2):135-142

Moran GJ, Amii RN, Abrahamian FM, Talan DA. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Community-acquired Skin Infections, *Emerging Infectious Diseases*, June, **11** (6).

Seal JB, Moreira B, Bethel CD, Daum RS. 2003. Antimicrobial Resistance In *Staphylococcus aureus* At The University Of Chicago Hospitals: A 15-Year Longitudinal Assessment In A Large University-Based Hospital. *Infection Control And Hospital Epidemiology*. June. **24**(6):403-408

Shah A, Mond J, Walsh S. 2004. Lysostaphin-Coated Catheters Eradicate *Staphylococcus aureus* Challenge and Block Surface Colonization, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, July, **48** (7): 2704–2707.

Skiest DJ. 2006. Treatment Failure Resulting from Resistance of *Staphylococcus aureus* to Daptomycin. *Journal Of Clinical Microbiology*, Feb. **44**(2):655–656

Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. 2002. Vancomycin Resistance in Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*. July. **15**(3):430–438

Steenbergen JN, Alder J, Thorne GM, Tally FP. 2005. Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Feb. **55**(3):283–288

Stevens DL, Herr D, Lampiris H, Hunt JL, Batts DH, Hafkin B, Linezolid MRSA Study Group. 2002. Linezolid versus Vancomycin for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections, *Clinical Infectious Diseases*; **34**:1481–90.

Streit JM, Jones RN, Sader HS. 2004. Daptomycin activity and spectrum: a worldwide sample of 6737 clinical Gram-positive organisms, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **53**, 669–674.

Styers D, Sheehan DJ, Hogan P, Sahn DF, 2006. Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. Feb. **5**:2

Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. 2001. Increasing Resistance to Vancomycin and Other Glycopeptides in *Staphylococcus aureus*, *Emerging Infectious Diseases*, March–April, **7** (2).

Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, Clark N, Killgore G, O'Hara CM, Jevitt L, Patel JB, Bozdogan B. 2004. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolate from a Patient in Pennsylvania, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, Jan., **48** (1): 275–280.

Tiemersma EW, Bronzwaer SLAM, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, Monen J, Witte W, Grundmann H, Equipo del EARSS. 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. *Emerging Infectious Diseases*. Sept, **10**(9):1627-1634

Velazquez-Meza ME, Aires de Sousa M, Echaniz-Aviles G, Solórzano-Santos F, Miranda-Navales G, Silva-Sanchez J, de Lencastre H. 2004. Surveillance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Pediatric Hospital in Mexico City during a 7-Year Period (1997 to 2003): Clonal Evolution and Impact of Infection Control. *Journal Of Clinical Microbiology*, Aug. **42**(8):3877–3880

Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. 2006. Increased Vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates from a University Hospital during a 5-Year Period. *Journal Of Clinical Microbiology*, Nov. **44**(11):3883–3886

Weems JJ. 2001. The many faces of *Staphylococcus aureus* infection: recognizing and managing its life-threatening manifestations. *Postgrad Med*. Oct. **110**(4):24-36

Weigelt J, Kaafarani HMA, Itani KMF, Swanson RN. 2004. Linezolid eradicates MRSA better than vancomycin from surgical-site infections, *The American Journal of Surgery*, **188**: 760–766.

Weinstein RA. 2001. Controlling Antimicrobial Resistance in Hospitals: Infection Control and Use of Antibiotics. *Emerging Infectious Diseases*. March–April. **7**(2):188-192

Werner G, Cuny C, Schmitz FJ, Witte W. 2001. Methicillin-Resistant, Quinupristin-Dalfopristin-Resistant *Staphylococcus aureus* with Reduced Sensitivity to Glycopeptides. *Journal Of Clinical Microbiology*. Oct. **39**(10):3586–3590

Witte W, Strommenger B, Stanek C, Cuny C. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in Humans and Animals, Central Europe. *Emerging Infectious Diseases*. Feb. **13**(2):255- 258

Wootton M, Howe RA, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. 2002. In vitro activity of 21 antimicrobials against vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) and heteroVRSA (hVRSA). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **50**:760-761

Wulf M, van Nes A, Eikelenboom-Boskamp A, de Vries J, Melchers W, Klaassen C, Voss A. 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Veterinary Doctors and Students, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*. Dec. **12**(12):1939-1941

Zong Y, Bice TW, Ton-That H, Schneewind O, Narayana SVL. 2004. Crystal Structures of *Staphylococcus aureus* Sortase A and Its Substrate Complex*. *The Journal Of Biological Chemistry*. July. **279**(30):31383–31389

RESÚMEN BIOGRÁFICO

David Rosendo Briseño Estrada

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias con Especialidad en Microbiología

Tesis: ACTIVIDAD IN VITRO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS SOBRE *Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE (MRSA): EVALUACIÓN COMPARATIVA DEL MÉTODO E-TEST Y DILUCIÓN EN TUBO

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en Hermosillo, Sonora el 18 de Noviembre de 1979, hijo de Zarina Estrada Fernández y César Briseño Jaramillo.

Educación: Egresado de la Universidad de Sonora, grado obtenido Químico Biólogo con Especialidad en Análisis Clínicos en 2004.