

***Staphylococcus aureus* y resistencia antimicrobiana en dos hospitales de Tegucigalpa, 2011-2012**

Lelany Pineda-García,¹ Edgardo Tzoc,² Linda Herrera³
Celeste Galindo,⁴ María Félix Rivera⁵

RESUMEN

El objetivo de esta investigación es determinar la resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* en dos hospitales de Tegucigalpa. Para lograrlo se siguió una metodología de estudio descriptivo, transversal. Se recolectaron todas las muestras de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes, de los laboratorios de dos hospitales, durante un periodo de 5 meses, en cada institución; las que se trasladaron al Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Microbiología de la UNAH; para el estudio de sensibilidad antibiótica y la identificación de los SARM, mediante el método de Kirby-Bauer y según normas establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); para los que se usaron diferentes antibióticos.

También se realizó la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) a OX usando E- test y la determinación de la producción de PBP2a, por el método de aglutinación en látex. Los datos fueron analizados con estadística descriptiva con el paquete estadístico EPI-INFO, versión 3.5.1. para Windows.

Se obtuvieron 90 aislamientos de *S. aureus* del laboratorio del Hospital Escuela y 106 de *S. aureus* en el laboratorio del IHSS. La mayoría de las bacterias aisladas provenían de exudados, los cuales presentaron resistencia a diferentes antibióticos y ninguna bacteria aislada presentó resistencia a Vancomicina. La resistencia a Oxacilina o SARM fue de un 14.3 % (IC95 % = 9.7 a 20). Se confirmó la resistencia antimicrobiana de *S. aureus* a Oxacilina o SARM por el método de Kirby-Bauer, E-test, PBP2.

¹ Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Facultad de Ciencias, Escuela de Microbiología. Correo electrónico: lelany.pineda@unah.edu.hn

² Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Facultad de Ciencias, Escuela de Microbiología. Correo electrónico: etzoc2000@yahoo.com

³ Hospital Escuela. Laboratorio de Microbiología.

⁴ Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

⁵ Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Facultad de Ciencias Médicas, Departamento de Fisiología. Correo electrónico: mariafelixrivera@yahoo.es

En conclusión, la prevalencia de SARM no es tan alta, basada en los parámetros para los países en vías de desarrollo y no se encontró resistencia a Vancomicina.

Palabras clave: *S. aureus*, resistencia antibiótica.

ABSTRACT

Objective: To determine antibiotic resistance of *S. aureus* strains isolated in two hospitals from Tegucigalpa, Honduras. *Materials and methods* A cross sectional study was conducted in Hospital Escuela and Instituto Hondureño de Seguridad Social. Isolates of *S. aureus* were collected from laboratories at two hospitals within a period of five months. Samples were transported to Bacteriology Laboratory of Microbiology School, and analyzed for antibiotic susceptibility profiles using Kirby Bauer test according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) were further tested for Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using E-test, and PBP2a production by passive latex agglutination test.

Data were analyzed using EPI-INFO 3.5.1 statistical software for Windows.

Results: 90 *S. aureus* isolates were obtained from Hospital Escuela and 106 from IHSS laboratories. Most strains were isolated from exudates, showing different antibiotic resistant profiles. None of the isolates exhibit resistance to vancomicina. Oxacillin resistance (MRSA strains) was 14.3 % (Ci95 %=9.7 -20), and was confirmed by Kirby Bauer, E_test and PBP2 tests.

Conclusions: compared to other countries data, we found a very low MRSA prevalence and absence of vancomycin resistance in our study.

Key words: *S. aureus*, antibiotic resistance, MRSA.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es el agente etiológico en diversas patologías, incluyendo infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemia, endocarditis, infección del sistema nervioso central y del tracto genitourinario. Por su ubicuidad, en función de los procedimientos médicos y uso de antimicrobianos, se confiere especial énfasis al aislamiento y estudio epidemiológico del *S. aureus*, considerando su rol primordial en las infecciones nosocomiales.

Las enfermedades producidas por bacterias de *S. aureus* son un serio problema de salud pública desde la perspectiva de la detección y el manejo terapéutico, tanto en el ambiente hospitalario como en el comunitario. Estos microorganismos muestran amplios patrones de resistencia, incluyendo agentes antibacterianos de diversos grupos, lo cual ha estimulado la búsqueda de tratamientos alternativos, constituyéndose así una extensa línea de investigación en los últimos años.

Por lo general, la mayoría de las cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina presentan resistencia a otros antimicrobianos como meticilina, eritromicina, tetraciclina, estreptomina y clindamicina, entre otros. De manera que este tipo de *S. aureus* se ha convertido en un reto para los médicos y en general para el personal de salud, lo que constituye una inminente amenaza para la población, ya que su peligro va en aumento.

La aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM), fue descrita inicialmente en 1960, poco tiempo después de la introducción de este antibiótico en la práctica clínica. En esa época se utilizaba meticilina para evaluar y tratar infecciones por *S. aureus*, pero ahora, la meticilina ya no es un agente de elección en el manejo clínico, ni para evaluar la susceptibilidad de *S. aureus*. En su lugar, se utiliza la oxacilina (más estable), por lo que el término correcto sería *S. aureus* resistente a oxacilina (SAOR); sin embargo, debido a su rol histórico, el acrónimo SARM es aún usado por la mayoría para describir estos aislamientos.

Dicha resistencia es conferida por una proteína de unión a penicilina (PBP) adicional, conocida como PBP2a o PBP2', la cual no está presente en las cepas susceptibles a meticilina. La PBP2a es codificada por el gen *Meca*, el cual forma parte de un complejo móvil (*mec*) que reside dentro de una isla genómica, un elemento genético denominado cassette cromosómico estafilocócico (SCC) en *S. aureus*.

La detección de resistencia a meticilina es complicada debido a la heterogeneidad de su expresión fenotípica, es decir, a pesar de que todas las células de una población posean el gen, solo 1 en 10 la manifiestan, dificultando su detección en el laboratorio, lo que ha conducido al desarrollo de varias técnicas para incrementar la expresión *in vitro* de dicha resistencia y reducir el tiempo de diagnóstico, mediante la búsqueda de metodologías sensibles y específicas.

Las pruebas recomendadas por el Instituto para la Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI, según sus siglas en inglés) incluyen el método del disco de oxacilina

(OX, 1 µg) en agar Mueller Hinton (MH) incubado a 35°C y la prueba de descarte en agar oxacilina (MH conteniendo 6 µg/mL de OX y 4% de NaCl). Por lo tanto, el diagnóstico e identificación de este microorganismo reviste gran importancia para orientar una adecuada antibioterapia, dado lo complejo que resulta su manejo.

En Honduras, se han reportado algunas evidencias del problema de resistencia de *S. aureus* y las implicaciones clínicas que conlleva para los pacientes; asimismo, algunos hospitales de referencia llevan registro del número de aislamientos de *S. aureus* y su patrón de resistencia, sin embargo, la información es limitada.

En vista de lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo *determinar la resistencia antimicrobiana de S. aureus en dos hospitales de Tegucigalpa. Con este se pretende contribuir a revelar información basada en evidencia sobre el problema del S. aureus resistente a antibióticos. Los datos obtenidos serán de gran utilidad a nivel hospitalario y comunitario, en especial para los tomadores de decisiones y los que definen las medidas epidemiológicas necesarias para una intervención adecuada para el beneficio en general de la población y de los pacientes hospitalizados en particular.*

METODOLOGÍA

El estudio se realizó en el Hospital Escuela y en el Instituto Hondureño de Seguridad Social (IHSS) de la ciudad de Tegucigalpa. Se diseñó un estudio tipo descriptivo, que consistió en recolectar todas las muestras de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes durante un periodo de 5 meses: julio-noviembre de 2011 en el Hospital Escuela y 5 meses en el IHSS, de febrero a junio de 2012.

La unidad recolectora de las bacterias de *Staphylococcus aureus* fueron los laboratorios de ambas instituciones hospitalarias. Posteriormente, las bacterias aisladas se trasladaron al Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Microbiología de la UNAH para su análisis.

La identificación bacteriana se realizó de acuerdo con los métodos convencionales descritos previamente. Las bacterias obtenidas en el Hospital Escuela y en el IHSS fueron nuevamente aisladas en un medio de gelosa sangre con base de casman para determinar la pureza. Se realizó prueba de catalasa y coagulasa para confirmar la especie de *S. aureus*.

Estudio de sensibilidad antibiótica. La identificación de los SARM se realizó mediante el método estandarizado de difusión con discos (conocido como Kirby-

Bauer), utilizando agar Mueller-Hinton sin suplementar con NaCl y con un disco de cefoxitina 30 µg, según las normas establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Se preparó un inóculo estandarizado comparable con el tubo 0.5 de MacFarland, por resuspensión directa de colonias a partir de un cultivo puro de 24 horas en gelosa sangre (GS). Con ayuda de un hisopo estéril, se inoculó la superficie de una placa de agar Müller Hinton (MH) y se procedió a probar los discos de antibiótico. Las placas inoculadas se incubaron a 35–37°C exactamente por 24 horas en atmósfera aeróbica. Para la lectura se consideraron los halos de inhibición recomendados por la casa fabricante de los discos de antibióticos.

Los antibióticos usados fueron: penicilina 10 µg, eritromicina 15 µg, gentamicina 10 µg, norfloxacin 10 µg, tetraciclina 30 µg, cloranfenicol 30 µg, sulfametoxazol-trimetoprim 25 µg, vancomicina 30 µg, amoxicilina más ácido clavulánico, cefoxitin y oxacilina (OX).

Para el control de la calidad del proceso se utilizó la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) a OX. A todas las bacterias aisladas de *S. aureus* resistentes por el método de difusión del disco único de alta potencia, se les determinó la CIM a OX mediante el método de E-test® (AB Biodisk, Solna, Suecia). Se definió la CIM como la mínima concentración del antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y se interpretó de acuerdo a los criterios del CLSI, reportándose como resistentes las cepas con una CIM mayor de 4 µg/mL y como sensibles aquellas cuya CIM era menor de 2 µg/ml.

Determinación de la producción de PBP2a: la detección de PBP2a como producto del gen *Meca* se realizó utilizando el PBP2a Test Kit (Oxoid®), de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Este método se basa en la aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales contra la proteína PBP2a. Aspectos éticos: se obtuvo la aprobación de los comités de ética de la Unidad de Investigación Científica de la Facultad de Ciencias Médicas y del Instituto Hondureño de Seguridad Social.

Análisis estadístico: los datos fueron capturados en el programa computacional Excel y Epiinfo para Windows, versión 3.4.3. También se aplicó estadística descriptiva, distribución de frecuencias, porcentajes e intervalos de confianza.

RESULTADOS

Se obtuvieron 90 aislamientos de *S. aureus* del laboratorio del Hospital Escuela y 106 de *S. aureus* en el laboratorio del IHSS, con un total de 196 cepas estudiadas. El 81 % de las cepas procedían de exudados y 13.2 % de hemocultivo. En un menor porcentaje de urocultivo (2.3 %), líquido pleural (0.5 %), secreción vaginal (0.5 %) y líquido sinovial (0.5 %).

Tomando en cuenta el total de cepas aisladas de *S. aureus* en ambos hospitales, se obtuvo el más alto porcentaje de resistencia a penicilina en un 93.9 %. Para tetraciclina y eritromicina el porcentaje fue mucho menor, con un 31.3 % y 31.5 %, respectivamente. El porcentaje de resistencia para amoxicilina más ácido clavulánico fue únicamente de un 18.7 % y cefoxitin casi igual con un 14.3 %. Para norfloxacina el porcentaje fue de únicamente 8.2 % y se obtuvieron porcentajes significativamente más bajos de 3.1, 0.5 y 1 % para gentamicina, trimetropin sulfato y cloranfenicol, respectivamente. No se detectó resistencia para vancomicina (ver figura 1), en cuanto a la resistencia a oxacilina fue de un 14.3 % (IC 95 % = 9.7 a 20) o llamado de mejor manera *S. aureus* metilicina resistente (SARM).

Tomado los resultados de forma separada, las cepas aisladas de *S. aureus* procedentes del Hospital Escuela presentaron una resistencia menor a cefoxitin (8.2 %), oxacilina (8.2 %), amoxicilina más ácido clavulánico (11.1 %) y norfloxacina (6.1 %); en comparación con los porcentaje obtenidos en el IHSS, donde fueron significativamente mayores, en donde la resistencia fue mayor para penicilina (97 %) y gentamicina (7.2 %) (ver figura 1).

Para cinco de los antibióticos en estudio, los resultados obtenidos muestran similitud en los niveles de resistencia entre las cepas aisladas entre el IHSS y el Hospital Escuela. Estos fueron tetraciclina (31.1 % y 32 %), eritromicina (33 % y 33.7 %), cloranfenicol (0 % y 1 %), trimetropim sulfato (0 % y 2 %) y vancomicina; este último fue el único antibiótico para el cual no se obtuvo ninguna cepa resistente.

Se logró confirmar la resistencia antimicrobiana de *S. aureus* a oxacilina o SARM a través de la comparación con otros métodos como el E-test y detección de la PBP2a.

En el presente estudio se encontró que todas las bacterias aisladas que eran SARM, también eran resistentes a penicilina y a cefoxitin; en menor porcentaje, 81.5 % compartían resistencia con eritromicina, más de la mitad con norfloxacina, una tercera parte con tetraciclina y en un menor porcentaje cloranfenicol y gentamicina; y

solo un aislamiento bacteriano compartía resistencia con trimetropin sulfa y en la misma cantidad con amoxicilina más ácido clavulánico. Por supuesto, todas eran sensibles a vancomicina (ver tabla 1).

Gráfico 1. Porcentaje de resistencia antibiótica en cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes hospitalizados en el IHSS y Hospital Escuela, 2011-2012.

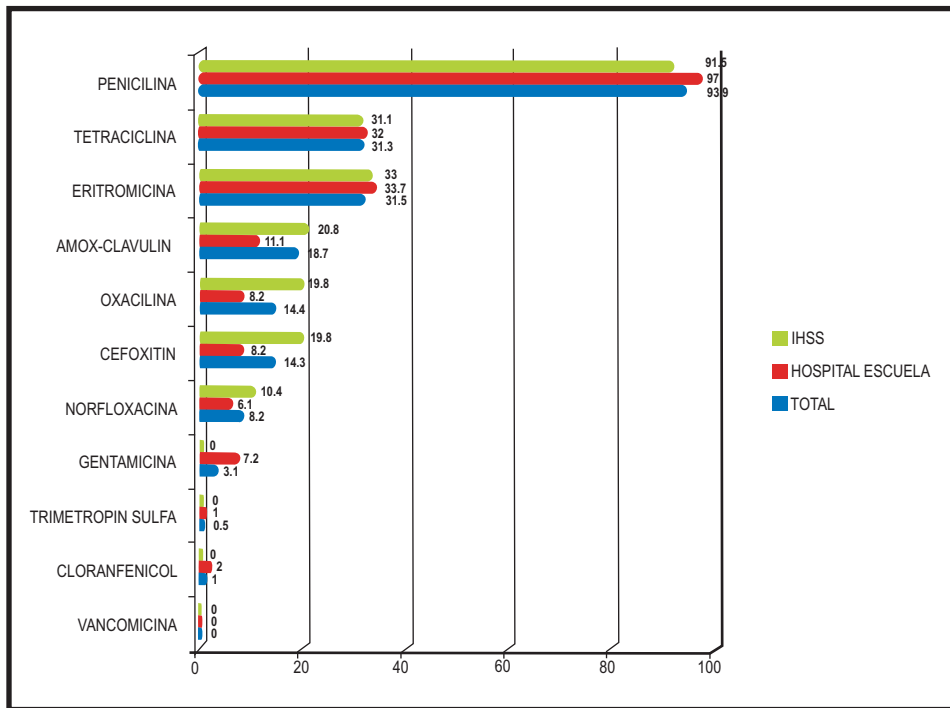


Tabla 1. Resistencia de cepas aisladas SARM a otros antibióticos de pacientes hospitalizados Hospital Escuela e IHSS, 2011-2012 (n=27)

Antibiótico	No.	%
Vancomicina	0	0
Amoxicilina más ácido clavulánico	1	3.7
Trimetropin sulfa	1	3.7
Gentamicina	2	7.4
Cloranfenicol	2	7.4
Tetraciclina	9	33.3
Norfloxacin	16	59.3
Eritromicina	22	81.5
Penicilina	27	100
Cefoxitin	27	100

DISCUSIÓN

El tratamiento de las infecciones causadas por patógenos Gram positivos resistentes a los medicamentos sigue planteando un reto como resultado de la disminución en el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos debido a situaciones económicas y sociales.

El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) ha aumentado su prevalencia en el tiempo, por ejemplo, las atenciones por enfermedades causadas por SARM en las unidades de cuidados intensivos en los Estados Unidos aumentaron desde un 2 % en 1974, hasta un 64 % en 2005.

En este estudio se encontró que aproximadamente una de cada diez cepas aisladas de *S. aureus* eran meticilina resistente (SARM), lo cual es un porcentaje inesperadamente bajo, si consideramos que en otros países se han encontrado niveles de resistencia notablemente altos, hasta del 90 % de SARM, como en el caso de un hospital en México, cuyo porcentaje es muy superior a lo encontrado en nuestro estudio.

En Estados Unidos, entre 2003 y 2004, infecciones comunitarias asociadas a SARM representaron entre el 59,0 % y 63,8 % de las cepas aisladas en pacientes con infecciones de la piel que se presentaron en la emergencia. Al respecto, en cuanto a la mortalidad de dicha bacteria, encontraron en el 2005 que aproximadamente el 20,2 % de los casos con infecciones invasivas por SARM finalizaron en muertes.

Históricamente, las SARM son resistentes a otros antibióticos como son β -lactámicos, incluyendo cefalosporinas, en parte debido a causa de un problema estructural de cambio en la proteína de unión a penicilina, que resulta en una disminución en la afinidad por estos antibióticos. Esta consideración fue confirmada en este estudio.

Así, SARM es un *S. aureus* que puede presentar resistencia a todos los betalactámicos (incluyendo cefalosporinas y carbapenemes) y habitualmente a aminoglicosidos, eritromicina, clindamicina, tetraciclinas, sulfamidas, quinolonas y rifampicina; mientras que suele ser sensible a los glicopeptidos.

En nuestro país, según el último estudio nacional de prevalencia de la resistencia de *S. aureus* (1996), el 72 % de las cepas de SARM eran resistentes a la gentamicina, el 83 % a la eritromicina y clindamicina, el 96 % a ciprofloxacino y el 35 % a rifampicina. En cambio, solo el 4 % era resistente al cloranfenicol y el 7 % a cotrimazol, mientras

que todos eran sensibles a la vancomicina y teicoplanina.

De acuerdo al presente estudio, solamente son comparables los resultados de resistencia a eritromicina, con un porcentaje bastante similar del 81%. En cambio, la resistencia a gentamicina se encontró remarcablemente menor, exhibiendo una disminución del 72 % a solo 7.4 %; pero, el cloranfenicol muestra un ligero aumento de 4 a 7 %.

En el Hospital Escuela, Palma y Tábora (2006) encontraron que las cepas aisladas de *S. aureus* eran en su mayoría de exudados en pacientes hospitalizados y no demostraron resistencia a la vancomicina. Los aislados demostraron resistencia baja (14 %) a ceftriaxone y moderada (20-27 %) a oxacilina, eritromicina y trimetoprim sulfá; la resistencia a la penicilina fue del 94 %. En nuestra investigación los resultados son similares, excepto porque la resistencia a la oxacilina o SARM fue mayor a la encontrada en dicho estudio.

Padget y colaboradores (2009) en un estudio en el IHSS, encontraron la *S. aureus* resistente a metilina en un 36 %, siendo mayor que la encontrada en nuestro estudio; de forma que en ninguno de estos estudios previos se encontró resistencia a vancomicina.

Las diferencias encontradas posiblemente se deban a que el número de muestras analizadas fue mayor al de nuestra investigación, por ejemplo la inclusión de varios años, lo cual les da un menor margen de error. Asimismo, probablemente las variaciones en los resultados encontrados entre estudios previos y el nuestro se deban a cambios en el uso de antibióticos a nivel intrahospitalario, lo cual favorece la disminución de resistencia a la oxacilina y favorece el aumento de resistencia a los antibióticos de mayor uso. Tal como ocurrió en Europa, en donde un estudio retrospectivo por septicemia por *S. aureus* se encontró que el uso de las fluoroquinolonas y de las cefalosporinas había hecho que disminuyera la resistencia a *S. aureus*.

CONCLUSIÓN

Por la importancia de la temática se recomiendan estudios en forma sistemática para conocer el comportamiento de *S. aureus* y el uso de antibióticos, ya que esto permite al personal de salud y al Estado mismo hacer eficientes los recursos, especialmente en la disminución de la morbi-mortalidad debido a las enfermedades producidas por dicho microorganismo.

AGRADECIMIENTO

A la Dirección de Investigación Científica (DICU) de la UNAH, por el financiamiento de la beca sustantiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, E. et al. (2005). Detection of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant carriers in high risk neonatal unit. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 47, 16-21.
- Acosta-Pérez, G. et al. (2012). Evaluación de cuatro métodos para la detección de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente de muestras clínicas en un hospital regional. *Salud Pública de México*, 54, 1-6.
- Camacho, M. et al. (2004). Antimicrobial Drug Use and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Aberdeen, 1996–2000. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 1432-1441.
- CLSI. (2006). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 12th informational supplement. Document M100-S16. Wayne, Pa.
- Deurenberg, RH. et al. (2007). The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 13, 222-35.
- Gorwitz, RJ. (2008). Understanding the success of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing epidemic disease in the community. *J Infect Dis*, 197, 179-82.
- Kanerva, M. et al. (2009). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in Finland in 2004 to 2006. *J Clin Microbiol*, 47, 2655–2657.
- Klevens, RM. et al. (2006). Changes in the epidemiology of *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992–2003. *Clin Infect Dis*, 42, 389–391.
- Klevens, RM. et al. (2007). Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*, 298, 1763–1771.
- Kloos, WE. y Bannerman, TL. *Staphylococcus and Micrococcus*. En: Murray, PR. et al. (1999). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington D.C.: ASM Press.
- Lawes, T. et al. (2012). Trends in *Staphylococcus aureus* bacteraemia and impacts of infection control practices including universal MRSA admission screening in a hospital in Scotland, 2006-2010: retrospective cohort study and time-series intervention analysis. *BMJ Open*, 2 (3), pii: e000797, doi: 10.1136/bmjopen-2011-000797, 1-6.
- Lim, D. y Strynadka, NC. (2002). Structural basis for the beta lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Struct Biol*, 9, 870-876.

- Moran, GJ. et al. (2005). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired skin infections. *Emerg Infect Dis*, 11, 928-930.
- Moran, GJ. et al. (2006). Methicillin resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med*, 355, 666-674.
- Notario, R. et al. (2007). Isolation Of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Ca-Mrsa) In Santa Fe Province, Argentina. *Rev Med Rosario*, 73, 82-85.
- Palma, F. y Tábora, J. (2006). Sensibilidad de las bacterias a los antibióticos en el Hospital Escuela de Tegucigalpa en el período 2001-2002. *Rev. Med Hondureña*, 74, 126-134.
- Padget, D. et al. (2011). Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas en el Instituto Hondureño de Seguridad Social. *Rev. Med Hondureña*, 79, 117-121.
- Spellberg, B. et al. (2004). Trends in antimicrobial drug development: implications for the future. *Clin Infect Dis*, 28, 1279–1286.
- Siegel, JD. et al. (2007). Management of Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings. *Am J Infect Control*, 35, S165-93