



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE MEDICINA

**“Detección de *Staphylococcus aureus* y su resistencia
antibacteriana en niños portadores asintomáticos de
Pachuca, Hidalgo”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO

PRESENTA:

JUAN PABLO NÚÑEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR:

DR. MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO. MAYO 2007

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Eterno creador de lo evidente, lo intangible y más allá, por ser el camino único, la verdad reveladora aún para la ciencia, gracias por brindarme la existencia y ser la luz que siga guiando mi caminar en el sendero.

A mis Padres:

Por darme la vida y creer antes que nadie en mis proyectos aún en la incertidumbre de los mismos, por su apoyo y cariño, por la confianza y paciencia, reflejo de su amor. Ahora sé que si uno no elige a sus progenitores, Dios los elige en lugar nuestro. ¡Gracias! Difícilmente hubiera habido mejores.

Dr. Marco Becerril (UAEH)

Por impulsar aún en medios hostiles el desarrollo científico de la medicina. Por creer hace ya años en este proyecto. Gracias por su tutoría, trabajo y su amistad.

Dr. A. Fernández Bouzas (INB-UNAM), Dr. M. Janeiro (H. Español), Pbro. Emilio del Blanco (Barcelona) por su comprensión y los consejos que espero hagan de mí un mejor médico, mejor ciudadano, y hombre de bien.

Leslie: Por ser mi compañera de infortunios y amiga en esta aventura que juntos cursamos.

Ericka, Anselmo y César por su entusiasmo inicial en esta investigación.

Bernhard, Joörn, Laia, David, Zas, Sandra, por enseñarme el valor de la credibilidad humana en las tierras del viejo continente.

Gloria, Alma, Mariana (INB) por creer aún en el entusiasmo de la ciencia moderna.

A mis seres queridos, amigos, quienes, por falta de espacio y no de cariño no se enuncian, por mostrarme en todo este tiempo el significado de la condición humana y vivir conmigo ésta que, espero sea, una primera obra.

A todos ellos, a todos ustedes que siendo están y a los que, en silencio sin estarlo están:

¡GRACIAS!

Juan Pablo, Martes 01 de Mayo, 2007.

“La vida solo puede ser comprendida mirando el pasado, y sin embargo, debe ser vivida caminando hacia delante”

Sören Kierkegard

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN.	1
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.	2
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES.	4
2.1 Importancia en salud pública de las infecciones por <i>S. aureus</i> .	5
2.2 Infecciones por <i>S. aureus</i> en el mundo.	6
2.3 Infecciones en México.	7
2.4 Infecciones y repercusiones en la salud del humano.	8
2.5 Importancia de los antimicrobianos y resistencia antibacteriana.	9
CAPÍTULO III. MARCO TEÓRICO.	11
3.1 Características generales de las bacterias.	11
3.2 Bacterias y enfermedad.	15
3.3 Infección, patogenia y virulencia.	16
3.4 Respuesta del humano a la infección.	18
3.5 Características de <i>S. aureus</i> .	19
3.6 Infecciones respiratorias.	20
3.7 Identificación de <i>S.aureus</i> .	20
3.8 Condiciones recomendadas para la toma de muestras.	21
3.9 Exudado Faríngeo.	21
3.10 Tinción de Gram.	22
3.11 Siembra	22
3.12 Agar S110	23
3.13 Agar sangre	23
3.14 Manitol sal agar.	23
3.15 Agar de Mueller Hinton.	24
3.16 Prueba de la catalasa.	24

3.17 Prueba de la coagulasa.	24
3.18 Prueba del manitol.	25
3.19 Antibióticos.	25
3.20 Antibiograma.	29
3.21 Resistencia a los antibióticos.	30
CAPÍTULO IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	32
4.1 Justificación.	33
4.2 Objetivos.	34
4.3 Hipótesis.	34
CAPÍTULO V. MATERIAL Y MÉTODOS.	35
5.1 Población de estudio, criterios de elegibilidad.	35
5.2 Determinación del tamaño de la muestra.	35
5.3 Diseño epidemiológico.	36
5.4 Ubicación en el espacio temporal.	37
5.5 Universo de estudio.	37
5.6 Criterios de selección.	37
5.6.1 Criterios de inclusión.	37
5.6.2 Criterios de exclusión.	38
5.6.3 Criterios de eliminación.	38
5.7 Fuentes de información.	38
5.7.1 Aislamiento bacteriano.	38
5.7.2 Toma de exudado nasal y faríngeo.	39
5.8 Técnica de muestreo.	39
5.9 Definición operacional de variables.	40
5.10 Plan de análisis.	41
5.11 Métodos.	42
5.11.1 Procesamiento de muestras biológicas	42
5.11.2 Siembra en el medio de cultivo.	42
5.12 Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .	42
5.12.1 Selección de colonias.	42
5.12.2 Identificación bacteriana.	43

5.12.3 Tinción de Gram.	43
5.12.4 Siembra.	43
5.13 Pruebas específicas.	44
5.13.1 Prueba de catalasa.	44
5.13.2 Prueba de coagulasa.	44
5.13.3 Prueba del manitol.	45
5.14 Resistencia antibacteriana – antibiograma.	45
5.15 Presupuesto.	47
CAPÍTULO VI. ASPECTOS ÉTICOS.	48
CAPÍTULO VII. RESULTADOS.	51
CAPÍTULO VIII. DISCUSIÓN.	64
CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES.	68
BIBLIOGRAFÍA	69
ANEXOS	75

RESUMEN

Introducción. La bacteria *Staphylococcus aureus* es un organismo que fácilmente infecta a la población humana, sin embargo la enfermedad se desarrolla dependiendo del estado de salud de la población y la virulencia del microorganismo. La prevalencia de infección por *S. aureus* varía de región en región, y desde luego, las zonas donde hay mayor población infectada son las de mayor riesgo. Actualmente se sabe que innumerables cepas de esta bacteria adquieren resistencia a antibióticos lo cual ocasiona el fracaso terapéutico, además pueden existir portadores sanos que ante un aparente buen estado de salud pudiesen transmitir bacterias resistentes. Uno de cada 5 niños sanos entre los 3 y 8 años es portador asintomático de *S. aureus* lo cual implica riesgo de transmisión en la población infantil, no influyendo el género de la misma en la infección, pero puede variar conforme avanza la edad. La transmisión de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos se presenta desde etapas infantiles, según lo demuestra el siguiente trabajo. **Objetivo.** Determinar la prevalencia de infección por *S. aureus* en población infantil mexicana de 3 a 8 años de edad, de Pachuca Hidalgo, México y la relación de las cepas aisladas con resistencia antibacteriana.

Metodología. Tipo de estudio: observacional, transversal, descriptivo. Se muestrearon 138 niños a los que se aplicó exudado faríngeo y siembra en medio de cultivo, para identificar *S. aureus* y determinó su resistencia a antibióticos en niños portadores asintomáticos. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante pruebas descriptivas.

Resultados: Uno de cada 5 niños sanos entre los 3 y 8 años es portador asintomático de *S. aureus*. La resistencia a antibióticos fue mas frecuente a tetraciclina. La hemólisis de *S. aureus* no está directamente relacionada con la resistencia a antibióticos. La transmisión de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos se presenta desde etapas infantiles.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Las infecciones bacterianas son muy frecuentes en la población humana. Las de origen respiratorio se presentan comúnmente, sobre todo en épocas frías. Se ha observado que en ocasiones la gente adquiere una infección recurrente durante años o a lo largo de toda su vida, lo cual conduce a pensar que el individuo enfermo se infecta en repetidas ocasiones al grado de convertirse en un portador sano. Esto puede provocar un problema serio desde el punto de vista epidemiológico puesto que no se elimina al microorganismo y la infección permanece de manera constante en una comunidad.

La bacteria *S. aureus* es clasificada por su forma y tinción como coco grampositivo pudiéndose identificar por diferentes pruebas bioquímicas por lo que el diagnóstico de una infección se realiza con relativa facilidad; el padecimiento que produce con mayor frecuencia es la faringitis en la que si no se recibe el tratamiento correcto puede desencadenar problemas más complejos conduciendo a la muerte del paciente, principalmente a los niños.

En ocasiones es difícil erradicar las infecciones por *S. aureus* lo que da lugar a dichas infecciones recurrentes, seguramente debido a que el microorganismo ha

adquirido resistencia. Una causa de este fenómeno es el abuso de antibióticos o bien su uso inadecuado e impreciso. No se sabe desde que edad del humano, en una infección puede favorecerse la presencia de cepas multirresistentes a antibióticos, por lo que será importante conocer si desde edades infantiles la población humana adquiere cepas de *S. aureus* con esa capacidad de resistencia antibacteriana.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

La humanidad tiene tres grandes enemigos: la fiebre, la hambruna y la guerra; de ellos, el mayor y más terrible es la primera. A inicios del siglo XX La tuberculosis y otras formas de infección pulmonar eran las principales causas de muerte prematura.¹ El terror se debía a la falta de tratamientos terapéuticos eficaces provocando la muerte.¹ A finales del siglo XX los avances en sanidad pública y el desarrollo de vacunas y antimicrobianos modificaron esta circunstancia para muchas enfermedades. Los conocimientos que permitieron llegar a este punto se remontan a los estudios pioneros de Pasteur y Koch, quienes aislaron agentes específicos y comprobaron que ocasionaban infecciones en condiciones experimentales.¹ Sin embargo, a la fecha aún existe un umbral de conocimientos que no se dominan razón por la cual las infecciones siguen ocupando uno de los principales problemas de salud en el mundo. En este sentido hay bacterias cuyas infecciones no se han podido controlar. Una de ellas es producida por la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Desde el momento del nacimiento, el neonato puede ser colonizado por bacterias provenientes de sus congéneres inmediatos, las cuales se pueden encontrar en el muñón umbilical, zona perineal, piel y a veces en el tracto gastrointestinal.² Por otro lado, La piel y las mucosas representan un ambiente diverso para la microflora normal que la bacteria usualmente tiende a ocupar.^{3,4}

2.1 Importancia en salud pública de las infecciones por *Staphylococcus aureus*

A pesar de los avances diagnósticos, preventivos y, sobre todo, terapéuticos, las enfermedades infecciosas siguen constituyendo una causa importante de morbimortalidad. Estos avances médicos se ven obstaculizados por los cambios que han experimentado tanto los agentes infecciosos como los huéspedes⁵ *S. aureus* es la principal especie patógena de su género, causa común de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario. La variabilidad de *S. aureus*, la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia⁶ Es la bacteria que con mayor frecuencia ocasiona en todo el mundo enfermedad infecciosa piógena y es uno de los principales patógenos que origina morbilidad y letalidad en los niños.⁷

En el humano, el hábitat más frecuente de *S. aureus* es la porción anterior de las fosas nasales. Cerca del 30% de las personas porta en algún momento dado de su vida el microorganismo en ese sitio; éste porcentaje puede ser mucho mayor entre trabajadores del medio hospitalario así como en los pacientes hospitalizados. Algunos portadores nasales e individuos con colonización en otros sitios pueden también diseminar con amplitud el microorganismo en células epiteliales descamadas representando una fuente de infección para otras personas. El problema principal para comprender la relación entre la colonización y la enfermedad consiste en que no es posible distinguir las cepas que tienen incrementado el potencial para producir la enfermedad o virulencia.⁵

Los brotes en la comunidad generalmente son el resultado de la mala higiene y transmisión de fomites entre individuos. Algunos estudios señalan que se está

presentando un incremento de infecciones por *S. aureus* incluyendo aquellos *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM), siendo particularmente afectada la población pediátrica.⁸

2.2. Infecciones por *S. aureus* en el mundo

La amplia distribución de *S. aureus* así como la posibilidad de desencadenar infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en la comunidad y su extremada virulencia explican su relevancia como patógeno a nivel mundial.⁹

Los primeros brotes de infección nosocomial se describieron en hospitales europeos al inicio de los años sesenta. Desde entonces, su prevalencia se ha incrementado en la mayoría de áreas geográficas. En los últimos años, en España, los estudios sobre aislados de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) reflejan una prevalencia de infección desde 1.5% de personas infectadas en 1986, hasta a un 18-23% en 1996, convirtiendo a determinadas áreas hospitalarias, por ejemplo las unidades de cuidados intensivos, en zonas de riesgo para este tipo de infección.¹⁰ Algunos estudios realizados en determinados períodos elevan estas cifras hasta un 40%.¹⁰ El porcentaje de infecciones nosocomiales adquiridas por *S. aureus* varía del 62 – 72 % a nivel mundial¹¹.

S. aureus se ha encontrado como el microorganismo de mayor prevalencia en casos de bacteriemias, infecciones cutáneas y como causa de neumonías en comunidades abiertas y unidades hospitalarias de países de todo el mundo. En un estudio realizado por Dieckema se demuestra la presencia de infecciones en unidades hospitalarias de 23 estados de EU, 7 provincias de Canadá, 6 países latinoamericanos, incluyendo México, 13 países europeos y 7 en Asia.¹²

En un estudio bacteriológico comparativo de amigdalitis recurrente en niños y adultos, realizado en Singapur, Malasia, se encontró que el *S. aureus* fue la bacteria más aislada ocupando el 40.9 % de los estudiados teniendo una prevalencia similar en niños y adultos.¹³

2.3. Infecciones en México

En México, existe un franco predominio de *S. aureus* (15%) en cuanto a infecciones pediátricas nosocomiales, debido a su poca madurez inmunológica. La letalidad es estimada en alrededor de 5%.¹⁴ Los diversos estudios con los que se dispone en México se limitan prácticamente a la infección por *S. aureus* en el medio hospitalario y al uso de ventiladores mecánicos e intubación endotraqueal como causa de infección nosocomial¹⁴. Se sabe también que, en nuestro país, los niños con tubos de ventilación pueden desarrollar infección por *S. aureus*.¹⁵

La mayoría de las investigaciones se refieren a la resistencia a tratamientos referidos en adultos principalmente. Por ejemplo, la frecuencia de la resistencia a la meticilina por aislados de *S. aureus* en México es de 14.2 %.¹⁶

En un estudio realizado a lo largo de 3 años comprendidos entre 1996 y 1998 para valoración de la resistencia a meticilina en clones de *S. aureus* se encontró un tipo clonal único de *S. aureus* que fue resistente únicamente a penicilina, oxacilina y gentamicina.

En el año 2001 fue realizado un estudio en la unidad de pediatría de el hospital general regional de zona 1 del IMSS en Durango, se encontró que todas las cepas

de *S. aureus* fueron sensibles a oxacilina.¹⁷ El 100% de las cepas aisladas de aspirados traqueales y hemocultivos durante el mes de brote fueron resistentes a múltiples antibióticos y sólo sensibles a imipenem/cilastatín y ciprofloxacina¹⁷.

La mayoría de infecciones respiratorias corresponden a afecciones del tracto respiratorio superior y son de curso benigno, pero aproximadamente el 5% pueden implicar el tracto inferior. Además algunos cuadros como la epiglotitis constituyen urgencias médicas que obligan a un internamiento hospitalario inmediato.¹⁸

Aunque se trate de la misma especie, *S. aureus* puede manifestarse o ser distinto en diferentes lugares: según Davis,¹⁹ poblaciones de *S. aureus* están más presentes en poblaciones mexicanas que estadounidenses, posiblemente debido a las cepas mexicanas sean más resistentes, a que la población mexicana se automedica con mayor frecuencia creando mayor resistencia en las cepas de *S. aureus*, o bien porque acuden a consulta mayormente por motivos de alergias que la población estadounidense.¹⁹

2.4 Infecciones y repercusiones en la salud del humano

La causa más común de atención médica en pediatría (más del 60%) es el padecimiento de una enfermedad infecciosa, destacando la infección respiratoria.²⁰ La infección respiratoria en la infancia es de suma importancia, no solo por su frecuencia, sino también por sus consecuencias.²¹ En los países en vías de desarrollo aproximadamente el 25 % de la mortalidad infantil en menores de 5 años es atribuible a infecciones respiratorias agudas²² con tasas anuales de mortalidad que oscilan entre 1.5 individuos de cada 1,000 habitantes en Estados Unidos y hasta 11-15 por cada 1,000 en Sudamérica y África.²³ Muy probablemente la causa sea la

infección por *S. aureus*. Actualmente la información disponible sobre infecciones por *S. aureus* proviene de países industrializados y centros del tercer nivel de atención.

17

2.5 Importancia de los antimicrobianos y resistencia antibacteriana

Las bacterias del género *Staphylococcus* cobran importancia debido a tres razones: a la alta frecuencia de infecciones que producen, a la capacidad de afectar a personas inmunocompetentes e inmunodeprimidos, y a su capacidad de crear resistencia a los antimicrobianos empleados.^{2, 24}

La meta del tratamiento antimicrobiano es maximizar la actividad bactericida. Esto ha originado la búsqueda de nuevos antimicrobianos potentes, regímenes de dosificación efectivos y medidas de control evitando la resistencia, tales como el uso prudente de los mismos, y la producción de vacunas para reducir la colonización y la infección subsecuente.²⁵

Durante los últimos 20 años, las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM) emergieron como los principales patógenos bacterianos resistentes a antibióticos, reportados en infecciones nosocomiales a través de todo el mundo. Algunos autores sugieren como factores de riesgo que seleccionan y condicionan la colonización por este tipo de cepas: la hospitalización prolongada, las intervenciones quirúrgicas, la permanencia en unidades de cuidados intensivos, el uso irracional de antibióticos y la proximidad al personal médico u otros pacientes colonizados o infectados por SARM, porque los portadores nasales de este tipo de cepas representan la fuente fundamental para su dispersión en el ambiente hospitalario.²⁶

Una investigación recientemente realizada en el laboratorio de infecciones

respiratorias agudas bacterianas (IRAB) del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), dirigida a determinar, por vez primera en Cuba, la circulación de cepas SARM entre portadores nasofaríngeos sanos, proporcionó evidencias sobre la posibilidad de que estas cepas comiencen a circular y se diseminen en la comunidad.²⁷ En un municipio de Cuba, se realizó un estudio descriptivo puntual para la búsqueda de portadores nasales de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), entre niños sanos atendidos en círculos infantiles y entre niños hospitalizados expuestos a uno de los factores de riesgo o más que predisponen para la colonización por este tipo de cepas; De los niños sanos el 0,35 %, y de los hospitalizados el 2 % constituyeron portadores nasales de cepas SARM. Las cepas aisladas en ambos grupos de estudio mostraron índices altos de resistencia para la penicilina, tetraciclina y eritromicina por el método de Kirby - Bauer, lo que significa que la resistencia antimicrobiana por *S. aureus* ocurre en cualquier país.²⁷

En México, en el año 2003, se muestra que la elevada resistencia de *S. aureus* a los principales antibióticos, de elección, el mal uso de éstos y la relación con la contaminación por metales pesados actúa como factor de selección para ambos fenotipos de resistencia.²⁸ Todo lo anterior señala la resistencia en diferentes países y de ahí su gran importancia como patógeno del humano.

CAPITULO III

MARCO TEÓRICO

3.1. Características generales de las bacterias

Las bacterias son organismos microscópicos y morfológicamente sencillos. Carecen de núcleo y de los orgánulos de las células más complejas o eucariotas; sin embargo, al igual que las células de las plantas, la mayoría posee una pared celular a base de carbohidratos. Algunas presentan cápsula y otras son capaces de evolucionar a esporas, formas viables capaces de resistir condiciones extremas. El término bacteria también se emplea para denominar a todos los organismos unicelulares sin núcleo diferenciado que constituyen el nivel de organización procarionte. Los organismos procariontes se subdividen en *eubacterias* (dominio *Bacteria*) y Arqueobacterias (dominio *Archaea*). Son los organismos más abundantes del Planeta, sus dimensiones son muy reducidas, unas 2 micras de ancho por 7- 8 de longitud en la de forma cilíndrica de tamaño medio; aunque son muy frecuentes las especies de 0,5-1,5 micras. Pueden ser de carácter patógeno o no. Aún careciendo de núcleo, presentan estructuras elementales (un único cromosoma bacteriano) que realizan las funciones propias de este. El *cromosoma bacteriano* está situado en la zona media o *nucleoide*, y está formado por una única gran molécula de ADN, sin embargo puede presentarse como pequeñas moléculas de ADN o plásmidos. ²⁹

La pared celular está compuesta generalmente por hidratos de carbono, entre los que destaca la mureína un polisacárido complejo, lípidos y aminoácidos, esta pared se puede teñir de forma selectiva con la tinción de Gram, lo cual da lugar a la división de dos grupos de bacterias, las grampositivas y las gramnegativas, según se tiñan de azul violeta o rosa, respectivamente.

En el citoplasma de las bacterias no se aprecian orgánulos ni formaciones protoplasmáticas. La forma de las bacterias no es constante y, a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos²⁹

La estructura bacteriana de modo general es la siguiente:

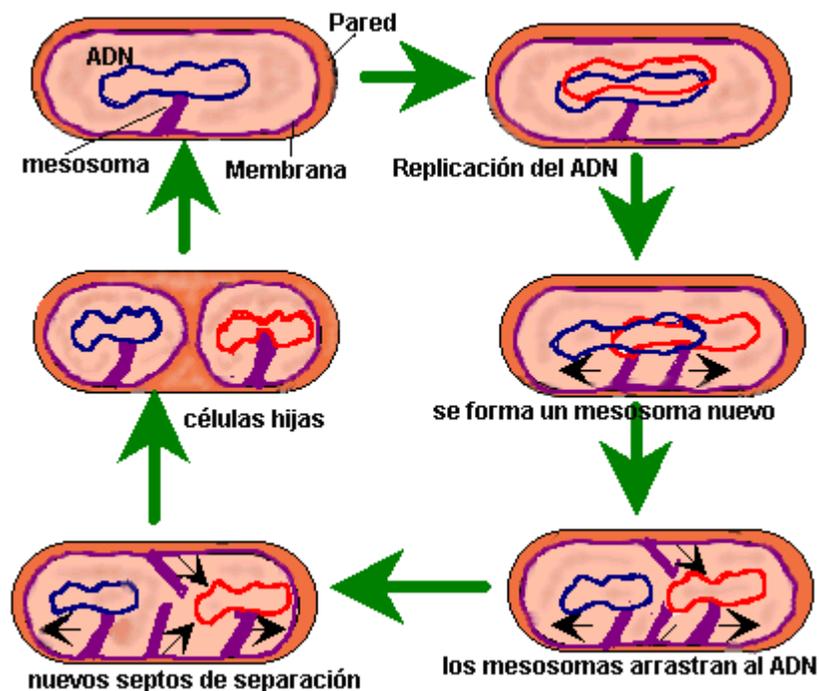
Citoplasma. Presenta un aspecto viscoso, y en su zona central aparece un nucleoide que contiene la mayor parte del ADN bacteriano, y en algunas bacterias aparecen fragmentos circulares de ADN con información genética, dispersos por el citoplasma: son los plásmidos. En el citoplasma se encuentran inclusiones de diversa naturaleza química.

La membrana plasmática presenta invaginaciones, que son los mesosomas, donde se encuentran enzimas que intervienen en la síntesis de ATP, y los pigmentos fotosintéticos en el caso de bacterias fotosintéticas.

Muchas bacterias pueden presentar flagelos generalmente rígidos, implantados en la membrana mediante un corpúsculo basal. Pueden poseer también, fimbrias o pili

muy numerosos y cortos, que pueden servir como pelos sexuales para el paso de ADN de una célula a otra. Poseen ARN y ribosomas característicos, para la síntesis de proteínas. Además de pared celular es rígida y con moléculas exclusivas de bacterias.²⁹

El éxito evolutivo de las bacterias se debe en parte a su versatilidad metabólica. Todos los mecanismos posibles de obtención de materia y energía podemos encontrarlos en las bacterias. Según la fuente de carbono que utilizan, los seres vivos se dividen en autótrofos, cuya principal fuente de carbono es el CO_2 , y heterótrofos cuando su fuente de carbono es materia orgánica. Generalmente las bacterias se reproducen por bipartición, tal como se aprecia en el siguiente esquema:



Tras la duplicación del ADN, que esta dirigida por la ADN-polimerasa que se encuentra en los mesosomas, la pared bacteriana crece hasta formar un tabique transversal separador de las dos nuevas bacterias.

Pero además de este tipo de reproducción asexual, las bacterias poseen unos mecanismos de reproducción sexual o parasexual, mediante los cuales se intercambian fragmentos de ADN.

La replicación bacteriana puede realizarse por los siguientes mecanismos de reproducción:

- TRANSFORMACIÓN: Consiste en el intercambio genético producido cuando una bacteria es capaz de captar fragmentos de ADN, de otra bacteria que se encuentran dispersos en el medio donde vive.

- CONJUGACIÓN: En este proceso, una bacteria donadora F+ transmite a través de un puente o pili, un fragmento de ADN, a otra bacteria receptora F-. La bacteria que se llama F+ posee un plásmido, además del cromosoma bacteriano.

- TRANSDUCCIÓN: En este caso la transferencia de ADN de una bacteria a otra, se realiza a través de un virus bacteriófago, que se comporta como un vector intermediario entre las dos bacterias.

Las bacterias se presentan en tres formas generales: organismos esféricos llamados cocos, en forma de bastoncillo (bacilos), formas helicoidales o de tirabuzón (espirilas). Puede ocurrir que las 3 presentaciones adopten variantes morfológicas denominándose formas pleomórficas.³⁰

Al agruparse cada una de estas presentaciones puede dar lugar a formaciones que son características en algunos géneros por ejemplo los cocos pueden agruparse en pares conocidos como diplococos, de cuatro cocos tétradas, en racimos (estafilococos) en cadenas (estreptococos) y en paquetes de ocho cocos (sarcinas). Los bacilos por su parte pueden agruparse formando cadenas (estreptobacilos) o a manera de empalizada o bien dando lugar a agrupamientos semejantes a letras chinas.³⁰

3.2 Bacterias y enfermedad.

Las diferentes modalidades de la relación huésped - parásito en un momento dado, pueden desencadenarse en una enfermedad infecciosa la cual puede definirse como un estado en el que la infección se ha vuelto suficientemente activa para invadir los tejidos habitualmente infectados del huésped y originar la aparición de signos y síntomas específicos.³¹

Los primeros eventos que suceden para que una enfermedad por gérmenes sea producida en el huésped susceptible son: la entrada, persistencia y multiplicación de aquellos dentro de éste. Para iniciar el proceso infeccioso, la mayoría de los agentes patógenos deben penetrar al huésped por la vía adecuada, competir por los sitios de

fijación de los órganos blancos y por las sustancias nutritivas disponibles con la flora normal así como defenderse de los mecanismos inmunológicos del hospedero. Esta situación depende de diversas situaciones que implican al microorganismo y al huésped, las cuales pueden ser diversas y complejas. Las defensas del huésped son importantes en la aparición, o no, de una infección. Los mecanismos de defensa están formados por las barreras naturales del cuerpo (por ejemplo., la piel y las mucosas) y por factores de respuesta inmunológica, tanto inespecíficas como son las células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y sus respectivos productos como específicas (por ejemplo, anticuerpos). Si la bacteria presenta mecanismos de virulencia, a pesar de la respuesta de resistencia a la infección por parte del huésped, aquél podrá establecerse; para ello debe poseer en su estructura, en primer lugar adhesinas que permiten la adhesión al tejido del huésped y que por lo general son de naturaleza polisacárida; enseguida debe producir toxinas o enzimas que como consecuencia afectan la fisiología normal de los tejidos del huésped, algunas son líticas pero otras son catalizadores de reacciones que favorecen la producción de sustancias nocivas al humano.^{30,31}

3.3 Infección, patogenicidad y virulencia

La vida del ser humano se encuentra íntimamente ligada al mundo de la microbiología, basta con observar los fenómenos de la vida cotidiana para comprender que una sin fin de sucesos ocurren ante la presencia de diversos seres microscópicos. Hoy sabemos por ejemplo que procesos como la fermentación del vino, el queso el yogurt no serían posibles sin la intervención de estos organismos.

A pesar de ser una rama de la medicina relativamente joven (menos de 400 años) la microbiología se ha desarrollado como una de las áreas de vanguardia dentro del conocimiento humano. En los últimos años los avances, en el campo de la biología

molecular , que comprende la genética, la virología y la bacteriología moleculares contribuyeron a mejorar nuestros conocimientos acerca de los mecanismos de interacción huésped – parásito que hasta hace unos años eran inimaginables.³¹

Durante toda la vida del humano, estará en contacto directo con millones de microorganismos. Tanto humanos como animales poseen una microflora normal abundante que comienza a adquirir poco después de nacer y que generalmente, no provoca enfermedad, cada región del cuerpo posee condiciones ambientales específicas por lo tanto diferentes poblaciones microbianas. Muchos de ellos son microorganismos habituales que actuaran como comensales beneficiándose con ésta asociación con el huésped sin afectarle, incluso en algunas ocasiones ambos organismos se beneficiaran él uno del otro de manera mutualista, se establece entonces de manera normal un equilibrio entre el huésped y la población microbiana. Dicho equilibrio garantizará de alguna manera la supervivencia, crecimiento y propagación tanto de la bacteria como del huésped. En circunstancias normales se requieren numerosos factores del huésped para mantener el equilibrio entre éste y el microbio. Parte de tales factores son las barreras físicas normales conformadas por una piel íntegra y una mucosa sana.

Sin embargo existen también microorganismos nocivos para el ser humano, aquellos que comprometen la homeostasis de la economía y que se conocen como patógenos. El proceso infeccioso resulta de un desequilibrio en la relación entre el microorganismo y el huésped. La severidad de la infección varía de acuerdo a la agresividad del microorganismo y al estado inmunológico del huésped para hacer frente a dicha infección como ya se mencionó antes.

Aún cuando una especie bacteriana sea patógena, no significa que todas las cepas de esa especie causen el mismo daño, pues mientras una es patógena para cierto tipo de huésped para otra no lo es.³¹

3.4. Respuesta del humano a la infección

El proceso infeccioso resulta de un desequilibrio en la relación entre el microorganismo y el huésped (ser humano). El grado de severidad de la infección varía de acuerdo a la agresividad del microorganismo y al estado inmunológico del huésped para hacer frente a dicha infección. Algunos agentes infecciosos son de por sí altamente agresivos, independientemente del nivel de defensas del individuo. Otros microorganismos, si bien no producen una infección seria en un paciente previamente sano, se hacen potencialmente agresivos cuando encuentran un individuo con sus defensas disminuidas. Las defensas del huésped son importantes en la aparición, o no, de una infección.

Los mecanismos de defensa están formados por las barreras naturales del cuerpo, piel y mucosas, y por factores de respuesta inmunológica, tanto inespecíficas, células fagocíticas [neutrófilos, macrófagos] y sus respectivos productos) como específicas (anticuerpos y complemento).

La piel se opone con efectividad a la invasión por microorganismos a menos que esté físicamente alterada (p. Ej., lesiones, traumatismos, catéter i.v., incisión quirúrgica o picadura de insecto). Sin embargo, existen excepciones como el papiloma virus humano, agente causal de las verrugas, que puede invadir la piel normal. Algunos parásitos son capaces de atravesar la piel intacta³¹

Las mucosas bañadas por secreciones con propiedades antimicrobianas (p. Ej., moco cervical, líquido prostático y lágrimas; proporcionan barreras efectivas En el tracto respiratorio, los gérmenes inhalados han de atravesar el filtro formado por las vías aéreas superiores y el árbol traqueobronquial. Si el microorganismo invasor llega a la tráquea y los bronquios, el sistema mucociliar se encarga de alejarlo del pulmón. También la tos ayuda a eliminar los gérmenes. Si el microorganismo alcanza los alvéolos, es englobado por los macrófagos alveolares y los histiocitos tisulares; en caso de inflamación pulmonar, éstos se ven ayudados también por la llegada de neutrófilos y monocitos que se hacen aún más eficaces cuando existen mecanismos inmunes (p. ej., opsoninas). Sin embargo, estos mecanismos defensivos pueden verse superados si el número de microorganismos es grande o cuando su efectividad se ve comprometida por contaminantes aéreos (p. ej., humo de cigarrillos), respiradores mecánicos o traqueostomía.³⁰

3.5 Características de *S. aureus*

El género *Staphylococcus* incluye actualmente 32 especies y 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas, con la excepción de *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie *anaerobius*, que son anaerobias estrictas. De éstas, sólo aproximadamente 12 se encuentran normalmente colonizando al huésped humano, siendo *S. aureus* sin duda, la principal dentro del mencionado género. Aparecen como bacterias cocáceas grampositivas agrupadas en parejas, tétradas, cadenas cortas o, de forma característica, como racimos irregulares. Son inmóviles y no esporuladas. Crecen bien en los medios de cultivo habituales, muestran β -hemólisis en medios con sangre, y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de NaCl (medio selectivo de Chapman).²⁹

Las principales características para identificación de *S. aureus* y que sirven para su diferenciación de otras especies del género son: a) producción de coagulasa; b) sensibilidad al disco de 5 µg de novobiocina; c) actividad fosfatasa alcalina; d) producción aeróbica de ácido a partir de D-trealosa y D-manitol, y e) producción de desoxirribonucleasa termoestable. Las cepas de *S. aureus* dan positivas, además, las siguientes reacciones: glucosidasa, arginina descarboxilasa, N-acetilglucosamina, acetoina, reducción de nitratos, ureasa y resistencia a la polimixina B (disco 300 U).²⁹

3.6 Infecciones respiratorias

Las infecciones de las vías respiratorias constituyen una de las razones principales causas para que la gente de todas las edades solicite atención médica. Las infecciones de vías respiratorias explican una morbilidad considerable y representan para la sociedad una carga económica sustancial, pues se pierden innumerables días de trabajo y escuela como resultado de estas infecciones.²⁰

Los portadores nasales asintomáticos no tienen que ser excluidos del contacto con pacientes, a menos que la cepa transportada sea peligrosa y constituya la fuente sospechada de un brote epidémico.

3.7 Identificación de *S. aureus*

El procesamiento correcto de las muestras, en el laboratorio de microbiología, es fundamental para el diagnóstico de un proceso infeccioso. Para ello es indispensable partir de muestras representativas del cuadro en estudio. Para un diagnóstico de infección por *S. aureus* es necesario emplear diferentes pruebas de laboratorio. Las que permiten su identificación son:

3.8 Condiciones recomendadas para la toma de muestra

Es esencial conocer cuáles son las muestras biológicas idóneas, cómo se obtienen, volumen, número, medio de transporte y condiciones de almacenamiento, en caso de que su procesamiento no sea inmediato. El fracaso en el aislamiento de un germen se debe, la mayoría de las veces, a una mala toma o a deficiencias en el transporte de las muestras antes que a un fallo en las técnicas de cultivo. La toma de muestras debe realizarse preferiblemente antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano. Debe recogerse un volumen adecuado de cada tipo de muestra. Volúmenes escasos pueden originar falsos negativos. Es importante seleccionar el lugar anatómico apropiado de donde obtener la muestra, hacerlo mediante la técnica adecuada y enviar correctamente, en envases estériles y lo más rápidamente posible, puede ser conveniente llevar los medios de cultivo y el equipo necesario hasta el enfermo para asegurar la rápida inoculación de la muestra en los medios de cultivo. Al procesar las muestras, se deben usar medios de cultivo específicos para aislar el patógeno sospechoso.

3.9 Exudado faríngeo

Debe recogerse la muestra en medio de transporte y se puede conservar hasta por 2 h a temperatura ambiente y 24 h en nevera. No es recomendable realizar tomas superficiales para cultivos bacterianos.

3.10 Tinción de Gram.

El aspecto de la colonia orienta en cuanto al tipo de microorganismo encontrado. A continuación se realiza tinción de Gram para seleccionar las pruebas de identificación con base a la coloración y morfología: coco, bacilo, Gram positivo, Gram negativo.

En muestras de tejido o líquidos estériles la tinción de Gram permite visualizar la presencia de gérmenes, lo que facilita la instauración de un tratamiento antibiótico empírico en función de lo observado: cocos Vs. bacilos, Gram positivos Vs. Gram negativos, etc. Los líquidos se deben centrifugar y realizar la tinción con el material sedimentado. Para el estudio de tejidos se realizan improntas sobre láminas de vidrio. Habitualmente se fijan con calor, aunque se señala que la fijación con metanol, sobre todo en muestras que contengan eritrocitos, mejora la calidad de la tinción.

3.11 Siembra

Las colonias de *S. aureus* generalmente no son difíciles de reconocer tras ser sembradas en agar, alcanzan un tamaño de 2 a 3 Mm. de diámetro tras 24 hrs. de incubación a 35 C o más de 7mm después de 48-72 hrs.

La mayoría de las colonias tienen consistencia cremosa, son opacas y convexas y presentan pigmentaciones.

3.12 Agar S110

Es un medio selectivo para el aislamiento e investigación de *Staphylococcus*. El medio contiene gelatina y manitol lo que permite el aislamiento de estafilococos que atacan y degradan dicha sustancia.

3.13 Agar sangre

Es un medio general rico en nutrientes, por lo que permite el crecimiento de un número amplio de bacterias, además es un medio diferencial ya que permite la comprobar si la bacterias es capaz de hemolizar los eritrocitos del medio de cultivo. Si la hemólisis que presenta es total, se denomina Beta – hemólisis; si es parcial Alfa – hemólisis y cuando no existe se denomina hemólisis tipo Gamma.³²

3.14 Manitol sal agar

Es un medio selectivo y diferencial muy utilizado para el aislamiento e identificación de *S. aureus*. La concentración alta de sal le proporciona un carácter selectivo, ya que solo este tipo de microorganismos osmotolerantes pueden multiplicarse en él. Además el único azúcar presente es el manitol que únicamente es fermentado por las cepas patógenas de este microorganismo diferenciándole de ésta manera de los que no lo son. *S. aureus*, fermentador del manitol crecerá en el medio dando lugar a colonias grandes rodeadas de un halo amarillo, por otra parte *S. epidermis* que no fermenta el manitol. Da lugar a colonias pequeñas rodeadas de un halo púrpura.

3.15 Agar de Mueller Hinton

Es un medio muy rico en nutrientes útil para el crecimiento y aislamiento de meningococos y gonococos. Se emplea además en las pruebas de sensibilidad y antibiogramas.

3.16 Prueba de la catalasa

Las bacterias que viven en un ambiente aerobio necesitan enzimas capaces de neutralizar esas formas tóxicas como la catalasa que transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular. El *S. aureus* es la única especie de origen humano capaz de producir catalasa. La prueba de la catalasa es positiva al poner en contacto una bacteria con actividad catalasa con peróxido de hidrógeno al 3% y se producen burbujas de oxígeno. Una prueba de catalasa positiva es el criterio más importante para identificar *S. aureus*. Esta prueba se emplea para diferenciar al *staphylococcus* (catalasa positivo) del *streptococcus* (catalasa negativo).

3.17 Prueba de la coagulasa

La prueba de la coagulasa puede ser hecha de dos maneras: portaobjeto y tubo. Portaobjeto.- se toma una muestra de *S.aureus* la cual se emulsifica en una gota de solución salina sobre un portaobjeto mezclándose con una gota de plasma de conejo con ácido etileno diamino tetracético EDTA. La aglutinación ocurre en 5 segundos en una prueba positiva, detectando coagulasa libre. Como control negativo solo se utiliza la colonia sospechosa y la solución salina.

Tubo.- Se realiza inoculando 0.5 ml de una dilución de plasma de conejo 1:4 con la colonia sospechosa. Las pruebas positivas se presentan al cabo de 1 a 4 hr a 35 C. Si la prueba es positiva detecta coagulasa unida a la bacteria.

3.18 Prueba del manitol

Esta prueba permite la detección de la fermentación del manitol proporciona una importante característica que permite diferenciar *S. aureus* de otros *Staphylococcus* coagulasa negativos.³²

3.19 Antibióticos

Amoxicilina: Es un antibiótico bactericida de amplio espectro con acción sobre gérmenes patógenos susceptibles a la penicilina y gramnegativos comunes. La amoxicilina es una aminopenicilina con poder bactericida de amplio espectro, su actividad antibacteriana depende de sus efectos inhibitorios sobre la síntesis de la pared celular bacteriana, originando una estructura defectuosa y osmóticamente inestable.

Ceftriaxona: La ceftriaxona es un antibiótico cefalosporínico semisintético de amplio espectro, de actividad bactericida debido a la inhibición de la síntesis de la pared celular. Es resistente a un gran número de betalactamasas. Las dosis usuales producen concentraciones terapéuticas en diversos líquidos y tejidos del organismo. Indicada en el tratamiento de las infecciones moderadas a graves, simples o mixtas, causadas por cepas sensibles como:

- a) **Aerobios grampositivos:** *Staphylococcus aureus* (incluyendo cepas productoras de penicilinasas), *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* del grupo A y del grupo B, *S. viridans*, *S. bovis*.
- b) **Aerobios gramnegativos:** *Aeromonas spp*, *Alcaligenes spp*, *Branhamella catarrhalis*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *E. coli*, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Klebsiella spp*, *Moraxella spp*, *Morganella morganii*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia spp*, *Pseudomonas aeruginosa* (algunas cepas son resistentes), *Salmonella spp*, (incluyendo *typhi*), *Serratia spp*, *Shigella spp*, *Vibrio spp*, *Yersinia spp*, (incluyendo *Y. enterocolitica*).
- c) **Anaerobios:** *Bacteroides spp*, *Clostridium spp*, *Fusobacterium spp*, *Peptococcus spp*, *Peptostreptococcus spp*.

Clindamicina: La clindamicina ha demostrado ser efectiva en el tratamiento de las siguientes infecciones cuando son causadas por bacterias anaerobias susceptibles; cepas susceptibles de bacterias aerobias grampositivas como los estreptococos, estafilococos y neumococos; y cepas susceptibles de *Chlamydia trachomatis*. La clindamicina inhibe la síntesis de proteínas de la célula bacteriana, enlazándose a la subunidad 50 S de los ribosomas.

La clindamicina altera la superficie celular de la bacteria, disminuye la producción de toxinas y enzimas bacterianas.

Tetraciclina: es primariamente un bacteriostático y se cree que su efecto antimicrobiano se debe a que inhibe la síntesis de proteínas. La oxitetraciclina es activa contra una gran variedad de gérmenes grampositivos y gramnegativos. Los medicamentos del grupo de las tetraciclinas tienen un espectro antimicrobiano similar, siendo comunes las resistencias cruzadas entre ellas. Está indicada en el tratamiento de infecciones causadas por las siguientes bacterias grampositivas, cuando las pruebas bacteriológicas indiquen que son sensibles a la misma:

Streptococcus pneumoniae (antes *Diplococcus pneumoniae*) y *Staphylococcus aureus* (infecciones de la piel y tejidos blandos).

Lincomicina: La lincomicina ha demostrado ser efectiva en el tratamiento de las siguientes infecciones, cuando son causadas por cepas de aerobios grampositivos susceptibles, como los estreptococos, estafilococos y neumococos, o por bacterias anaerobias susceptibles. La lincomicina se fija a la unidad 50s de los ribosomas bacterianos y suprime la síntesis de proteínas.

Ciprofloxacino: El ciprofloxacino es una fluoroquinolona con acción bactericida que actúa a nivel intracelular, inhibiendo la enzima DNA girasa, una enzima bacteriana esencial involucrada en la transcripción, duplicación y reparación del DNA bacteriano. Las fluoroquinolonas son antibióticos de amplio espectro, activas contra una gran variedad de gérmenes grampositivos y gramnegativos.³³

Ampicilina: es una penicilina semisintética derivada del núcleo básico de la penicilina, el ácido 6-aminopenicilánico., actúa a nivel de la pared celular de las bacterias. Actúa contra Infecciones causadas por estreptococo beta hemolítico, *D. pneumoniae*, estafilococo (no productor de betalactamasa), *Clostridium*, *B. anthracis*, *L. monocytogenes* y otros enterococos, *Haemophilus influenzae*, *N. gonorrhoeae* y *meningitidis*, *P. mirabilis* y la mayoría de *Salmonellas*, *Shigellas* y *E. coli*.

Penicilina V potásica: Este antibiótico inhibe la síntesis del mucopéptido y péptido glucano que forma la pared celular bacteriana, impidiendo los enlaces cruzados entre las capas del mucopéptido, lo que realiza por inhibición de la enzima transpeptidasa responsable del último paso en la síntesis del mismo. Los citados componentes de la pared celular existen solamente en las bacterias, lo que explica la acción quimioterápica de la penicilina respetando al organismo huésped.

La penicilina actúa únicamente sobre las bacterias que están en crecimiento y la muerte bacteriana se debe a una desintegración de la pared celular, al inhibirse su síntesis y provocando la aparición de defectos en la misma, de tal manera que desaparece la protección de la bacteria que se hace osmóticamente sensible, y dado que la presión osmótica en el interior de la célula es enorme, puede penetrar líquido al interior hasta que la célula estalla (lisis).

Su espectro de actividad lo ejerce con efectividad contra la mayoría de los cocos grampositivos, como estreptococos de los grupos A, B, C, G, H, L y M, neumococo y estafilococo no productor de penicilinasas

Eritromicina: en la actualidad es el fármaco de elección para infecciones por microorganismos grampositivos resistentes a las penicilinas o en pacientes alérgicos a éstas. La eritromicina es un antibiótico perteneciente al grupo de los macrólidos. La eritromicina actúa inhibiendo la síntesis de proteínas al unirse a la subunidad 50s del ribosoma bacteriano, no afectando la síntesis del ácido nucleico. Su acción es bactericida, dependiendo de la dosis, contra gérmenes grampositivos (como estreptococo, estafilococo y neumococo), algunos gramnegativos (como *Haemophilus influenzae*)

Trimetroprim y sulfametoxazol: Ambos fármacos actúan en forma sinérgica mediante el bloqueo secuencial de dos enzimas bacterianas que catalizan etapas sucesivas en la biosíntesis del ácido folínico en el microorganismo. Este mecanismo generalmente resulta en actividad bactericida *in vitro* a concentraciones a las que las sustancias individuales son únicamente bacteriostáticas. Además, estos fármacos son con frecuencia efectivos contra organismos resistentes a alguno de los dos componentes. Poseen un espectro de acción muy amplio: gérmenes grampositivos y gramnegativos, como estreptococos (incluyendo los betahemolíticos), estafilococos, neumococos, meningococos, gonococos, *Salmonellas*, *Klebsiellas*, *Aerobacter spp*, *Shigellas* y vibrión colérico, entre otros.

Dicloxacilina: está indicada en las infecciones causadas por la mayoría de cepas de *Staphylococcus* y *Streptococcus*, dicloxacilina, pertenece al grupo de las isoxazolilpenicilinas. Es un fármaco relativamente estable en medio ácido y se absorbe adecuadamente después de ingerido. La dicloxacilina es resistente a la degradación por parte de la penicilinasas.

La dicloxacilina es un potente inhibidor de la proliferación de un elevado porcentaje de estafilococos productores de penicilinasas³³

3.20 Antibiograma

Es una prueba en la que por el método de difusión se enfrenta la bacteria inoculada sobre la superficie de un medio de agar (frecuentemente Mueller Hinton) a una solución antibiótica absorbida en discos de papel de filtro o pastillas. Aunque diversos factores pueden modificar los resultados, se busca obtener halos de inhibición en los antibióticos a los que el microorganismo sea susceptible. Los discos

de antibiótico deben contener la cantidad adecuada de antibiótico y ser conservados a 4 C protegidos de la humedad. La inoculación se efectúa a 37 C y en atmósfera aerobia y con un hisopo estéril. La lectura se realiza entre 18 y 24 h después. Éste método es adecuado únicamente para bacterias de crecimiento rápido de naturaleza patógena.

3.21 Resistencia a antibióticos

Los antibióticos actúan sobre los microorganismos por inhibición de la síntesis de la pared celular y activación de enzimas que destruyen esa pared, aumento de la permeabilidad de la membrana celular, interferencia con la síntesis de proteínas y alteración del metabolismo de los ácidos nucleicos. Aunque la etiología se puede deducir con frecuencia por los síntomas, los cultivos y las pruebas de sensibilidad a los antibióticos son esenciales para la selección correcta de un fármaco destinado al tratamiento de infecciones graves. Los microorganismos pueden desarrollar resistencia a cualquier fármaco, con rapidez o después de ciclos largos o repetidos de tratamiento. La resistencia se evita mediante el control rápido de las infecciones. Las dosis inapropiadas favorecen el desarrollo de resistencia; más adelante, incluso dosis mucho mayores pueden no conseguir el control de la infección.³³

La resistencia bacteriana a los efectos líticos de los componentes séricos guarda relación con la virulencia. Los estafilococos adquiridos en el hospital y la mayoría de las cepas adquiridas en la comunidad se muestran resistentes a la penicilina G, la ampicilina y las penicilinas antiseudomonas. La mayor parte de las cepas son susceptibles a las penicilinas resistentes a la penicilinasa (meticilina, oxacilina, dicloxacilina); cefalosporinas (cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefoxitina y cefalosporinas de tercera generación); carbapenemes (imipenem, meropenem); gentamicina; vancomicina; teicoplanina; lincomicina y clindamicina. Es de todos sabido que el consumo de antimicrobianos altera la flora microbiológica del paciente,

favorece la emergencia de resistencia bacteriana y predispone al desarrollo de infecciones por oportunistas.^{34,35}

Aunque las cefalosporinas y la vancomicina son eficaces, se suele elegir una penicilina resistente a la penicilinasas. Muchas cepas de estafilococos son susceptibles también a eritromicina, tetraciclina, aminoglucósidos, bacitracina y cloranfenicol. Sin embargo, el cloranfenicol y la bacitracina rara vez están indicados, ya que se dispone de fármacos más eficaces y seguros.

CAPITULO IV

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las principales enfermedades que comúnmente sufre el humano son las respiratorias de origen bacteriano, algunas veces se adquieren por contagio pero en otras ocasiones los mismos individuos pueden ser portadores de agentes patógenos aunque en ellos no se desarrolle sintomatología. Dentro de las bacterias frecuentes que infectan el tracto respiratorio se encuentra el *Staphylococcus aureus*. No se sabe si desde la etapa infantil se presentan infecciones en el tracto respiratorio por esta bacteria que sea resistente a antibióticos de uso frecuente y que por la misma razón conduzcan a recurrencias y por tanto a cronicidad o inclusive ya existan niños portadores sanos de esta infección en la población mexicana.

Por lo anteriormente expuesto se postula la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la prevalencia de infección por *S. aureus* y su resistencia antimicrobiana en niños asintomáticos de Pachuca, Hidalgo?

4.1 JUSTIFICACIÓN

Debido a que las enfermedades respiratorias de origen bacteriano son muy comunes en el mundo y particularmente en la población mexicana, es importante identificar las especies que mas frecuentemente nos afectan. En la experiencia médica una de las bacterias más comunes es *S. aureus*, la cual se adquiere por contagio directo, principalmente a través del flügge. Sin embargo no en todos los individuos se desarrolla enfermedad aunque estén infectados pero actúan como portadores sanos para otros en los que si se desencadena la enfermedad.

El espectro clínico de las infecciones por esta bacteria son tan variadas que van desde la asintomatología hasta la muerte por afección de órganos muy delicados. Si se conoce la cantidad de individuos portadores asintomáticos de ésta bacteria se podrán establecer las medidas de prevención adecuadas así como estimar los riesgos de ésta infección.

Otro aspecto no menos importante es el conocimiento de los antibióticos que actúan con mayor eficacia para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus*, ya que en la experiencia clínica en muchas ocasiones los antibióticos se recetan de manera empírica que puede conducir al restablecimiento de la salud del paciente o bien, por el contrario, favorece la resistencia antibacteriana si no es el más adecuado. Con este estudio se podrá conocer la prevalencia de población infantil infectada por *S.aureus* y que por tanto podría estar en riesgo de infecciones recurrentes e inclusive resistentes a antibióticos que comúnmente se emplean, y además el riesgo que tiene la población que convive con este tipo de población, recordando que los portadores sanos son fuente de transmisión activa.

4.2 OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la prevalencia de infección por *S. aureus* en población infantil mexicana de 3 a 8 años de edad, de Pachuca Hidalgo, México y la relación de la resistencia de las cepas al tratamiento con antibióticos.

Objetivos particulares

- Determinar la prevalencia de niños portadores sanos de 3 a 8 años de edad, infectados a nivel de faringe con *S. aureus*.
- Identificar los antibióticos más eficaces para la erradicación de *S. aureus* en los portadores sanos.

4.3 HIPÓTESIS

El estudio no presenta hipótesis puesto que es una investigación prospectivo, observacional.

CAPITULO V

MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Población de estudio criterios de elegibilidad

El trabajo de investigación se realizó en niños asintomáticos que radicaban en la ciudad de Pachuca Hidalgo cuyas edades oscilaban entre los 3 y los 9 años de edad. El nivel de escolaridad de los niños fue preescolar y básico, la distancia que existía entre las viviendas de cada uno de los niños varió en un máximo de 15 Km. El estudio se realizó en un período máximo de 15 días.

5.2 Determinación del tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de población se realizó tomando en cuenta que la prevalencia de infecciones por *staphylococcus aureus* ha sido reportada en un 9%, según Ramos E. ED al 1991, de acuerdo a la siguiente expresión matemática:

$$n = \frac{\bar{d}^2 \alpha (p q)}{e^2}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra,

$\delta^2\alpha$ = desviación normal correspondiente a la probabilidad α de exceder el error permisible máximo (en este caso corresponde al 1.96, que comprende al 95.0 % en una población de la distribución normal),

p = tasa de prevalencia.

$q = 1 - p$, y

e = error permisible máximo.

De acuerdo con la fórmula:

$$(\delta^2\alpha) = 1.96$$

$$p = 0.09$$

$$q = 1 - p = 0.91$$

$$N = \frac{(1.96)^2 \times (0.09 \times 0.91)}{e^2} = 64.21 \text{ niños}$$

e^2

De ésta manera se necesitaba un mínimo de 65 individuos para que el estudio fuese representativo. En ésta caso. Dadas las facilidades de trabajo se trabajó con 135 niños los cuales se encontraban estudiando en 2 escuelas: en una escuela primaria 85 niños para incluir el rango de edad de 6 a 9 años y a nivel preescolar 50 niños para incluir el rango de edad de 3 a 6 años. Se pudo trabajar con más del doble de la cantidad necesaria debido a que las escuelas proporcionaron esa facilidad.

5.3 Diseño epidemiológico

Estudio Transversal, observacional y descriptivo.

5.4 Ubicación en el espacio temporal

El estudio se realizó solo en 1 jardín de niños y 1 primaria de la ciudad de Pachuca de Soto, Hidalgo a finales del ciclo escolar 2003 – 2004.

5.5 Universo de estudio

Una muestra representativa de 138 niños radicados en la ciudad de Pachuca, Hidalgo en un rango de 3 a 9 años de edad de niveles escolares preescolar y básico.

5.6 Criterios de selección

5.6.1 Criterios de inclusión

- Niños entre los 3 y 9 años de edad
- Niños del sexo masculino y femenino
- Niños que cursen en los niveles educativos preescolar y escolar
- Niños asintomáticos
- Niños que radicarán en Pachuca, Hidalgo
- Niños cuyo radio de distancia entre sus viviendas no excedieran los 15 km.

5.6.2 Criterios de exclusión

- Niños cuyo procesamiento de muestras biológicas fuera inadecuado
- Niños cuya identificación bacteriana fuera francamente dudosa.

5.6.3 Criterios de eliminación

- Niños que no correspondan al nivel educativo preescolar y escolar
- Niños que presenten sintomatología de patología respiratoria
- Niños no radicados en Pachuca Niños que no correspondan al rango de edad entre 3 y 9 años
- Niños cuyos padres no aceptaron participar en el estudio.

5.7 Fuentes de información

5.7.1 Aislamiento bacteriano

A cada uno de los niños bajo estudio se les practicó una encuesta en dónde se especificaba edad, género, origen, nivel de escolaridad, si ha recibió algún antibiótico en los últimos 3 meses antes del estudio así como la exploración clínica para asegurar que no presentasen sintomatología.

5.7.2 Toma de exudado nasal y faríngeo.

Para poder aislar bacterias presentes en cavidad nasal y en faringe se realizó la toma de exudado nasal y faríngeo de la siguiente manera: Mediante un hisopo estéril se introdujo en fosas nasales (primero izquierda y luego derecha, con diferente hisopo) un hisopo estéril pidiéndole al paciente que incline su cabeza hacia atrás y permanezca sentado durante la toma. El hisopo con la muestra se transportó para el posterior procesamiento de las muestras. En el exudado faríngeo se utilizó un hisopo tocando la mucosa faríngea y las amígdalas del paciente ayudándose de un abate lengua estéril. Igualmente las muestras se transportaron para el aislamiento bacteriano.

5.8 Técnica de muestreo

Se llevó a cabo un muestreo reclutándose a los sujetos asintomáticos en las escuelas seleccionadas en este caso, que cumplieron con los criterios de selección especificados, hasta cubrir el tamaño de la muestra. Por ser un estudio descriptivo se consideró un estudio no probabilístico no adoptándose una técnica probabilística

5.9 Definición operacional de variables:

Variable dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Infección	Invasión del organismo por microorganismos patógenos que se reproducen y multiplican, causando un estado morbozo por lesión celular local, secreción de una toxina o al provocar una reacción antígeno-anticuerpo en el huésped.	Infección por <i>S. aureus</i> que produzca sintomatología de patología respiratoria superior	Cualitativa nominal

Variables independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Edad	Tiempo cronológico de vida	Años de vida cumplidos	Cuantitativa continua
Sexo	Condición orgánica que distingue al macho y a la hembra	Conjunto de características que se presentan y diferencian a un hombre y una mujer	Cualitativa nominal
Nivel escolar	Grado de escolaridad de los sujetos	Grado de escolaridad de los niños (Jardín de niños o primaria)	Cualitativa ordinal categórica

5.10 Plan de análisis

Es un estudio prospectivo cuyos resultados se analizaron mediante pruebas descriptivas.

5.11 Métodos

5.11.1 Procesamiento de muestras biológicas:

Cada muestra se obtendrá en las escuelas de cada niño, se introdujeron en un tubo de vidrio vacío y seco de 16 x 150 Mm. estéril y con tapón de rosca, conteniendo 0.1 ml de solución salina estéril. El tubo se transportó a los laboratorios del ICsA en donde se realizó la siembra de las bacterias aisladas.

5.11.2 Siembra en el medio de cultivo:

Las muestras de cada niño, se sembraron en medio de agar nutritivo en cajas de Petri, mediante estría por agotamiento, se incubaron a 37 C durante 24 hrs.

5. 12 Identificación de *S. aureus*

5.12.1 Selección de colonias.

Una vez que desarrolladas las colonias se procedió a su observación para así seleccionar las de nuestro interés (*Staphylococcus aureus*) esto de acuerdo a las características morfológicas de la colonia.

5.12.2 Identificación bacteriana.

De cada colonia se obtuvo una muestra en portaobjetos para su observación directa al microscopio realizando previamente la tinción de Gram. A pesar de la incorporación durante los últimos años de nuevos métodos de diagnóstico microbiológico, el estudio al microscopio del material clínico enviado al laboratorio para su procesamiento aporta información muy útil, de forma rápida, sencilla y económica. Estos estudios se realizaron utilizando o no distintas sustancias colorantes, lo que permitió identificar, en ocasiones, la presencia de ciertos gérmenes patógenos según sus características morfológicas y tintoriales.

5.12.3 Tinción de Gram.

Las preparaciones se pueden fijar tanto con calor como con metanol. Se utilizó violeta de genciana como colorante primario y lugol como mordiente; se decoloró con alcohol - acetona al 50%, y se empleó safranina como segundo colorante. Los tiempos que se deben mantener los distintos reactivos varían; como orientación, 60-30-10-30 segundos, respectivamente para cada paso, son suficientes para obtener una buena tinción. Las preparaciones se observaron, una vez secas, con el objetivo 100 x. Los microorganismos Gram positivos se visualizaron de color violeta, mientras que los Gram negativos se tiñeron con la safranina en color rosado.

5.12.4 Siembra. Ver anexo 1.

Identificadas las bacterias se procedió a sembrarlas en agares específicos:

- a. Agar S110,, medio selectivo para *S. aureus*,
- b. Agar Sangre

- c. Manitol Sal Agar
- d. Agar Müller-Hinton

5.13 Pruebas específicas.

Una vez que se hubieron desarrollado, se procedió a realizar pruebas especiales que determinarían que se tratase de la bacteria específica a localizar. Entre las cuales se encuentran las siguientes:

5.13.1 Prueba de catalasa: ver anexo 2

Se utilizó para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo. La principal excepción es *Streptococcus*.

5.13.2 Prueba de coagulasa:

Otra prueba específica que se empleó fue la prueba de la coagulasa la cual es una enzima producida por la mayoría de los *Staphylococcus* presentes en infecciones producidas por este microorganismo, esta enzima es termoestable y se presenta como cierto número de determinantes antigénicos, varios de los cuales pueden ser producidos por una misma cepa stafilocócica, utiliza la fibrina elaborada a partir del fibrinógeno del plasma, la que cubre al *staphylo* y lo protege de la fagocitosis. La coagulasa antagoniza, con la actividad del suero normal. Así las bacterias coagulasa

positivas fueron capaces de desarrollarse en él, mientras que las coagulasa negativas no lo fueron.

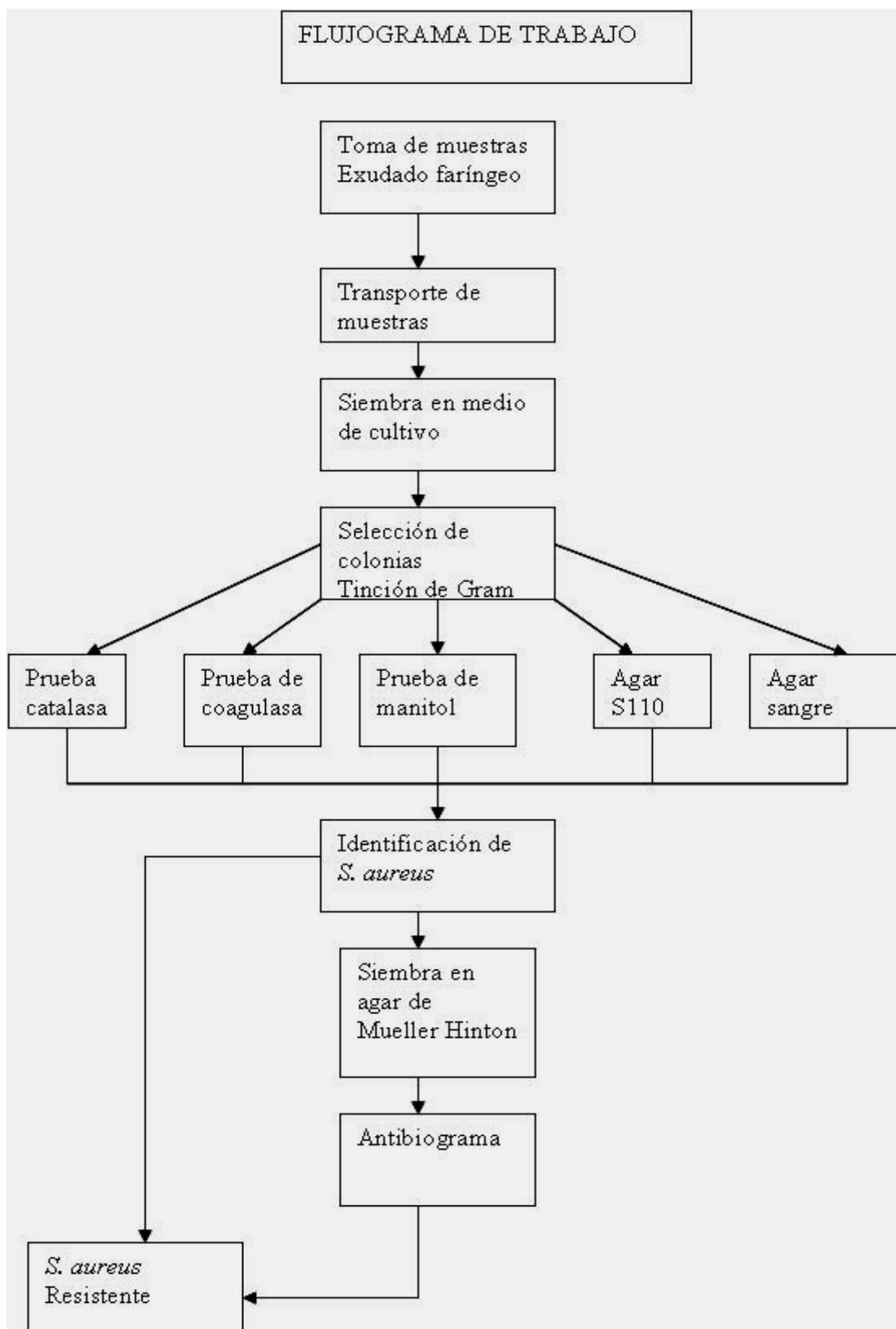
5.13.3 Prueba del manitol:

Se empleó para detectar si los gérmenes son capaces de fermentar el manitol liberando productos ácidos que serán detectados gracias al indicador rojo de fenol que cambió a color amarillo. Para esta prueba el medio manitol movilidad se incluyó 7,5 g/l de D-Manita. Entre las bacterias de importancia clínica, la prueba del manitol sirvió para diferenciar *Staphylococcus aureus* (+) de *Staphylococcus epidermidis* (-).

5.14 Resistencia antibacteriana - antibiograma.

Con las bacterias ya establecidas y cultivadas se procedió a realizar la prueba que determinase resistencia a antibióticos específicos.

1. Amoxicilina - Bayer 500 mg
2. Ceftriaxona - Roche 500 mg
3. Clindamicina - Upjohn 450 mg
4. Tetraciclina - Hormona 500 mg
5. Lincomiina - Upjohn 500 mg
6. Ciproflxacino – Bayer 500 mg
7. Ampicilina – Amiif – 500 mg
8. Penicilina V potásica -
9. Eritromicina – Lilly Amiff 250 mg
10. Trimetroprim y sulfametoxazol - Roche
11. Dicloxacilina - Sanfer



Presupuesto

Se contó con el apoyo del personal del laboratorio de investigación de microbiología del ICSa de la UAEH, así como los recursos económicos fueron financiados como parte del mismo presupuesto del laboratorio así como del alumno.

Recursos materiales:

1. Una libreta foliada para registro
2. 2500 hisopos estériles marca Johnson
3. 2000 tubos de ensaye estériles con tapa de rosca Becton Dickinson
4. 3500 cajas de Petri Pyrex
5. 2000 portaobjetos Pyrex
6. Microscopio Carl Zeiss KF2 compuesto
7. Colorantes (tinciones) safranina, cristal violeta y lugol Sigma
8. Cámara de flujo laminar bioseguridad clase II A/B3 Forma científica
9. Frigorífico American
10. Balanza Acculab VI – 200
11. Purificador Easypure UV/F Barnstead
12. Cronómetro Timer Westbend
13. 1 caja de guantes ambidiestros no estériles Protec
14. 3 matraces Erlenmeyer graduados Pirex
15. Equipo de cómputo y consumibles
16. 1 Kg. de papel de estraza
17. 1 rollo de cinta adhesiva
18. 3 marcadores indelebles Sanford diversos colores
19. Reactivos y medios de cultivo Bioxon
 - a. Solución salina isotónica Baker
 - b. Agar nutritivo
 - c. Agar tripticasa (TSI)
 - d. Agar sangre
 - e. Discos de bacitracina
 - f. Peróxido de Hidrógeno
 - g. Agar S110
 - h. Manitol Sal Agar
 - i. Agar Müller-Hinton
 - j. Colorantes para Gram
 - k. Antibiogramas Bio - Rad
 - i. Papel filtro Bio - Rad
 - ii. Antibióticos

CAPÍTULO VI

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo a la investigación realizada y conforme dictan los artículos relacionados a los principios de la ética aplicada a la investigación en los seres humanos del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud de México, el presente proyecto cumple con la normativa dictada:

Capítulo 1 de las disposiciones comunes.

Artículo 13.- En toda investigación en el que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar.

Artículo 16.- En las investigaciones de seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo solo cuando los resultados lo requieran y este lo autorice.

Artículo 17. Sección 1.- investigación sin riesgo, son estudios que emplean métodos y técnicas de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros en los que no se identifique ni se traten aspectos sensitivos de conducta.

Artículo 21.- Para que el consentimiento informado se considere existente el objeto de investigación o en su caso su representante legal deberá recibir una explicación clara y completa de tal forma que pueda comprenderla por lo menos sobre los siguientes aspectos:

- I. La justificación y objetos de investigación.
- II. Los procedimientos que vayan a usarse y su propósito, incluyendo la identificación de los procedimientos que son experimentales.
- III. Las molestias o riesgos esperados.
- IV. Los beneficios que puedan obtenerse.
- V. Los procedimientos alternativos que puedan ser ventajosos para el sujeto.
- VI. La garantía de recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración a cualquier duda acerca de lo procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento del sujeto.
- VII. La libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio sin que por ello se cree prejuicios contra su cuidado y tratamiento.
- VIII. La seguridad de que no se identificara al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.
- IX. El compromiso de proporcionarle información actualizada obtenida durante el estudio aunque esta pudiera afectar la voluntad del sujeto para continuar participando.

X. La disponibilidad de tratamiento medico y la indemnización a la que legalmente tendría derecho por parte de la institución de atención a la salud en caso de daños que la ameriten directamente causados por la investigación.

XI. Que si existen gastos adicionales estos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.

Artículo 23.- En el caso de investigaciones con riesgo mínimo la comisión de ética por razones justificadas podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formularse por escrito y tratándose de investigaciones sin riesgo podrá disponerse al investigador la obtención del consentimiento informado.

CAPITULO VII

RESULTADOS

Para este proyecto se estudiaron 138 niños que corresponde a un número mayor al de la N calculada, cuyas edades oscilan entre los 3 y 9 años de edad, el tamaño de población fue cercano entre niños y niñas, 75 y 63 respectivamente. Toda la población se encontró clínicamente sana, es decir, ninguno presentó sintomatología asociada a infección respiratoria. Todos radican en la ciudad de Pachuca de Soto, estado de Hidalgo y viven en zonas cuya separación entre sus viviendas es no mayor a 15 km. El estudio se realizó durante la misma época.

TABLA 1. Población estudiada

Edad (años)	Niños	Niñas	Total
3 a 4	7	6	13
4 a 5	5	5	10
5 a 6	10	6	16
6 a 7	22	15	37
7 a 8	20	20	40
8 a 9	9	11	19
Total	73	85	138

En la tabla 1 podemos observar el número total de infantes estudiados que corresponde a 138, 73 niños y 85 niñas siendo un número muy similar para ambos sexos. Se aprecia el rango de edad que va de los 3 a los 8 años de edad para los 2 sexos.

Tabla 2. Población estudiada por nivel educativo.

Población estudiada en preescolares		Población estudiada en escolares	
Edad	No. de alumnos	Edad	No. de alumnos
3	13	5	1
4	10	6	25
5	15	7	42
6	12	8	20
Total	50	Total	88

En esta tabla se observan el número total de alumnos estudiados de acuerdo al nivel educativo en que se encontraban, encontrando a 50 educandos de nivel preescolar y a 88 de nivel escolar o primaria.

TABLA 3. Prevalencia de infección por *S. aureus* en pre-escolares y tipo de hemólisis en los aislados.

Edad (años)	Niñas [♠]					Niños [♠]					Total				
	# <i>S. aureus</i>	α	β	γ	N	# <i>S. aureus</i>	α	β	γ	N	# <i>S. aureus</i>	α	β	γ	N
3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	7	0	0	0	0	13
4	0	0	0	0	5	2	1	0	1	5	2	1	0	1	10
5	2	0	1	1	5	0	0	0	0	10	2	0	1	1	15
6	2	1	0	1	6	4	1	1	2	6	6	2	1	3	12
No. Total de casos *	4	1	1	2	22	6	2	1	3	28	10	3	2	5	50
(%)	18	25	25	50		21	33	16	50		20	30	20	50	

S. aureus: Número de niños infectados por *S. aureus*. α : hemólisis alfa, β : hemólisis beta, γ : hemólisis gamma. * cepas de *S. aureus* obtenidas de niñas; \blacklozenge cepas de *S. aureus* obtenidas de niños * N: no. total de niños o niñas que participaron de cada edad y en que las cepas de *S. aureus* fueron aisladas y presentaron diferente tipo de hemólisis.

En la tabla 3 se puede observar que de los 138 niños estudiados, 50 cursaron el nivel preescolar, de ellos 22 niñas y 28 niños. De estos 50 niños el 20% estuvieron infectados con *S. aureus*, 4 niñas y 6 niños respectivamente. La edad con mayor infección presentada fue 5 y 6 años en niñas y 4 y 6 años en niños. Al menos un aislado de *S. aureus* tanto de niñas como de niños presentó distinto tipo de hemólisis, predominando con mayor frecuencia la hemólisis Gamma. Ningún niño de 3 años presentó infección por *S. aureus*.

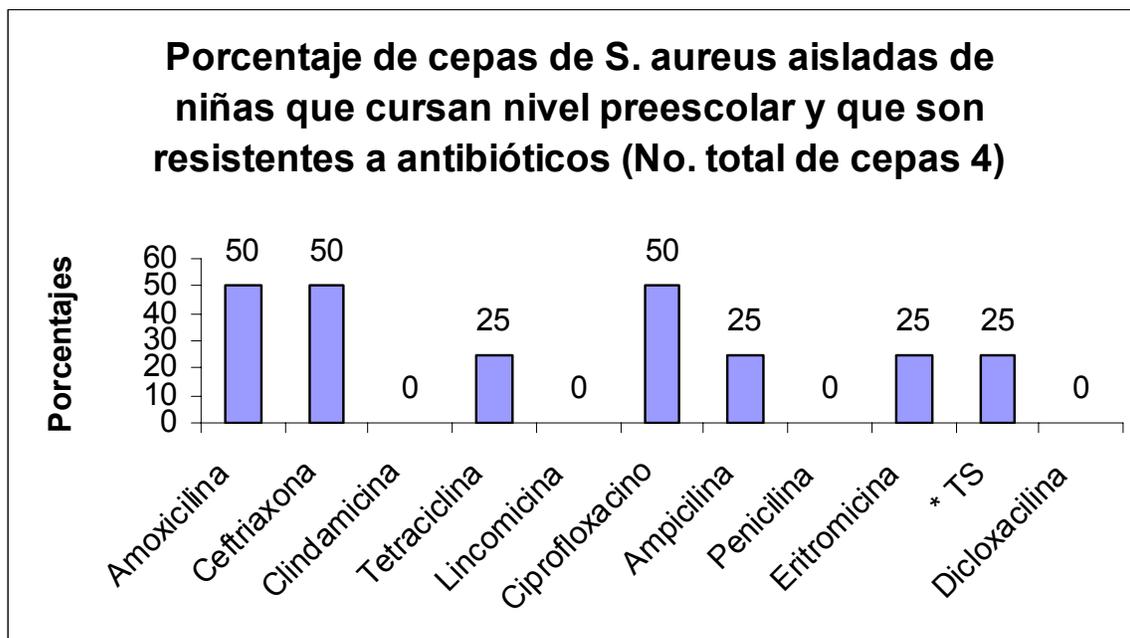
Tabla 4. Prevalencia de infección por *S. aureus* en escolares de nivel primaria y tipo de hemólisis en los aislados.

Edad años	Niñas *					Niños♦					Total				
	# <i>S.aureus</i>	α	β	γ	N	# <i>S.aureus</i>	α	β	γ	N	# <i>S.aureus</i>	α	β	γ	N
5	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
6	0	0	0	0	9	4	0	4	0	16	4	0	4	0	25
7	2	0	0	2	20	5	2	2	1	22	7	2	2	3	42
8	1	0	1	0	11	5	1	2	2	9	6	1	3	2	20
* Total (%)	4 (9.7%)	0	2	2	41	14 (29.8%)	3	8	3	47	18 (20.45%)	3	10	5	88

S. aureus: Número de niños infectados por cepas de *S. aureus*. α : hemólisis alfa, β : hemólisis beta, γ : hemólisis gamma. * cepas de *S. aureus* obtenidas de niñas; ♦ cepas de *S. aureus* obtenidas de niños *: No. total de niños o niñas que participaron de cada edad y en que las cepas de *S. aureus* fueron aisladas que presentaron diferente tipo de hemólisis

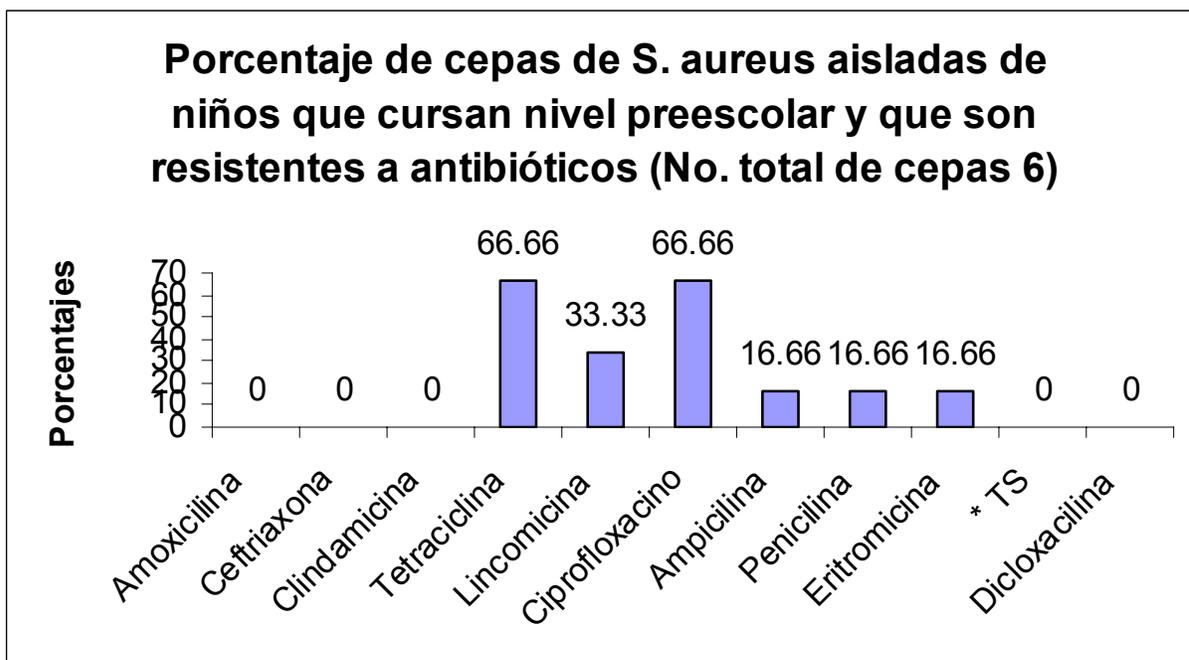
En la tabla 4 se observa que de 88 niños estudiados el 20.45 % se encontraba infectado por *S. aureus*, 4 niñas y 14 niños, es decir casi 4 veces más niños que niñas. La edad de infección más frecuente en ambos sexos fue 7 y 8 años. En las cepas aisladas tanto en niñas y niños la hemólisis más frecuente fue la beta, sin embargo en niñas de los 4 aislados 2 presentaron hemólisis beta y 2 gamma, pero en los niños fue más frecuente la beta: 3 veces más que alfa y 2 veces más que gamma.

Gráfica 1



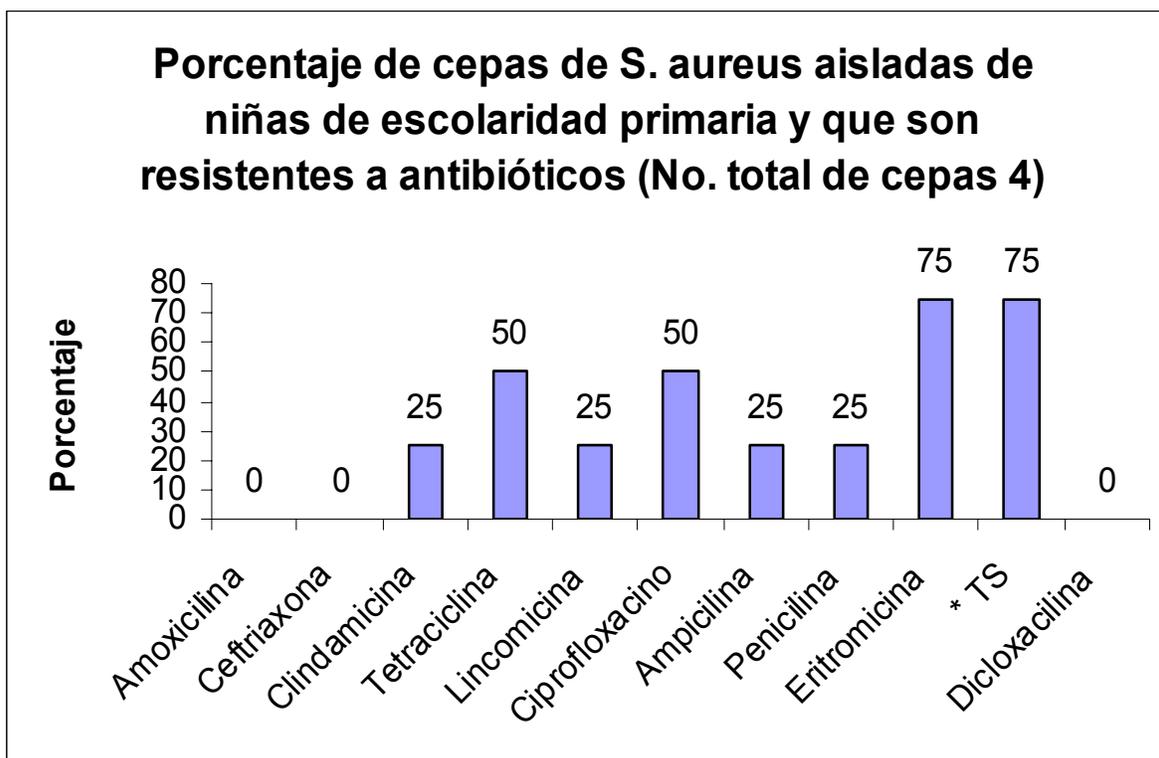
En la gráfica 1 se observa que de las 4 cepas de *S. aureus* aisladas de las niñas presentaron resistencia a al menos un antibiótico el 50 %. Para el caso de las niñas las cepas de *S. aureus* fueron resistentes a amoxicilina, ceftriaxona y a ciprofloxacino en mayor porcentaje.

Grafica 2



En la gráfica 2 se observa que de las 6 cepas de *S. aureus* aisladas de las niños preescolares presentaron resistencia a al menos un antibiótico 5 de las 6 cepas respectivamente que equivale al 83 % respectivamente. En el caso de los niños los antibióticos a los que las cepas de *S. aureus* aisladas presentaron mayor resistencia fueron tetraciclinas y ciprofloxacino, en ambos casos 4 de las 5 cepas resistentes.

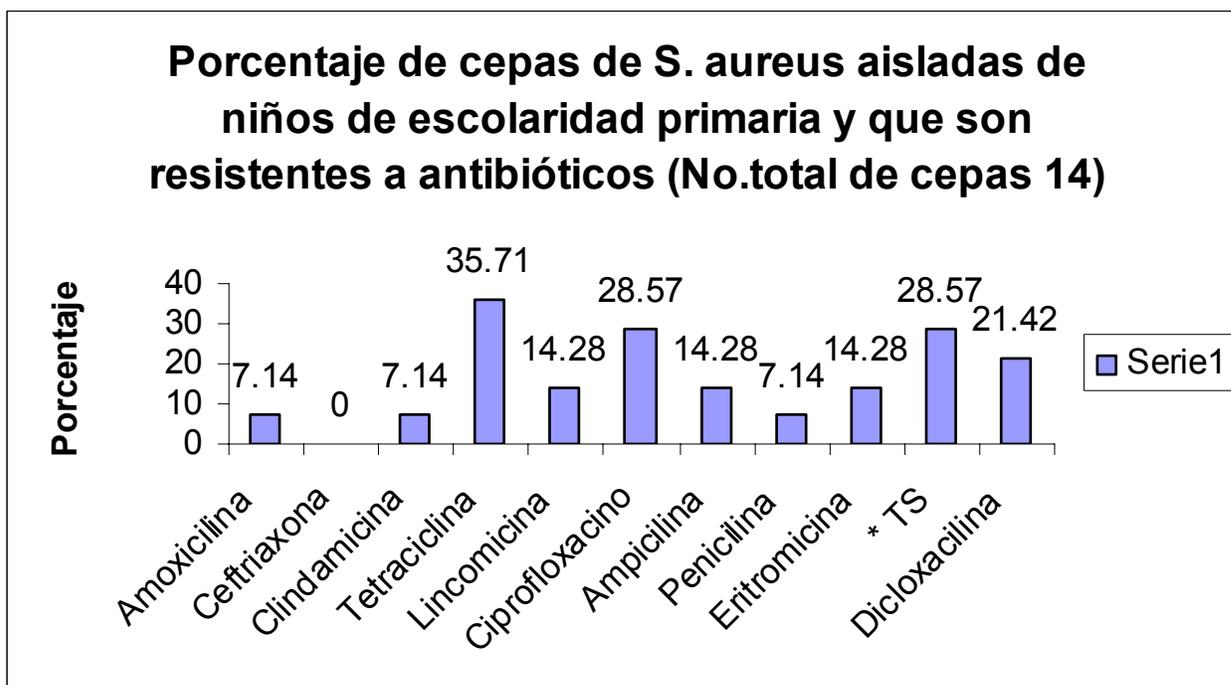
Gráfica 3



En la gráfica número 3 se observa que de los 4 aislados de *S. aureus* en niñas el 100 % presentó resistencia a algún antibiótico.

Tres de las 4 cepas aisladas de niñas (75%) presentaron resistencia a eritromicina y a trimetoprim con sulfametoxazol respectivamente. Así mismo el 50 % (2 de las 4 cepas aisladas en niñas) presentaron resistencia a tetraciclina y ciprofloxacino.

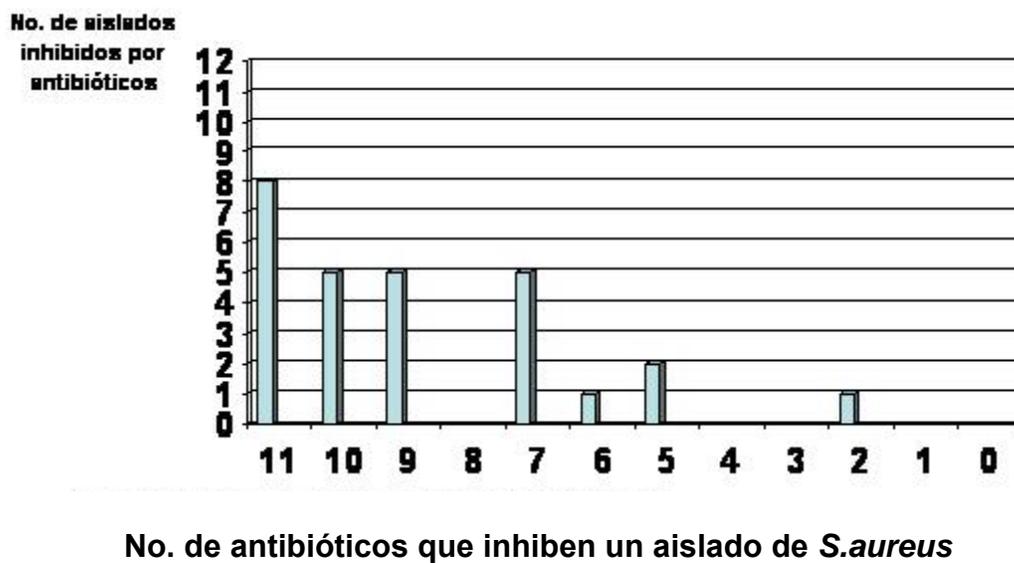
Gráfica 4



En la gráfica número 4 se observa en caso de los niños el 78.57% fueron resistentes, que corresponde a 11 de las 14 cepas aisladas.

En los niños de primaria 9 de las 11 cepas aisladas (81.81 %) de *S. aureus* fueron resistentes a tetraciclina mientras que 5 de las 11 cepas que representan el 45% fueron resistentes a ciprofloxacino lo que se correlaciona con los preescolares por los datos similares encontrados. La tetraciclina en este caso presenta la mayor resistencia.

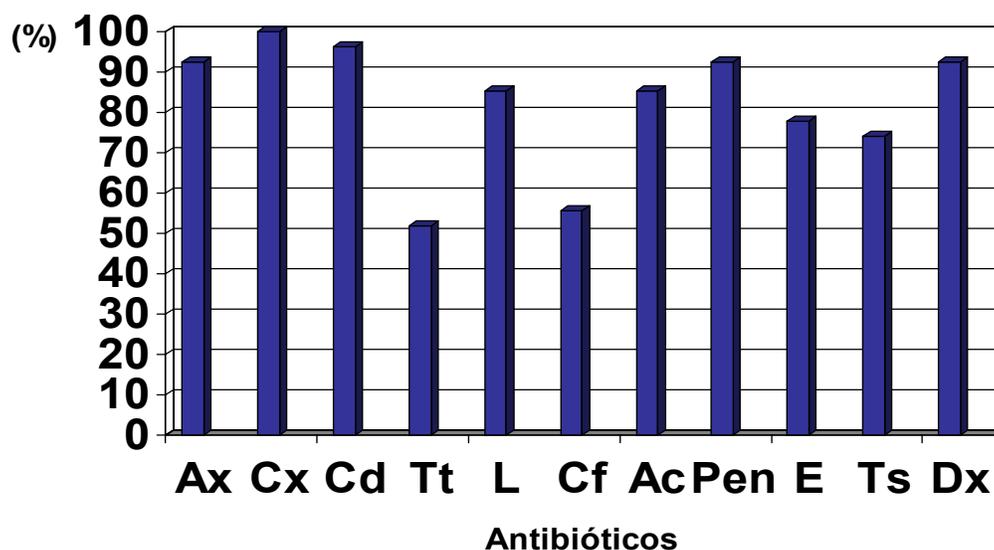
Gráfica 5.



Se puede observar en la gráfica 5 cuántos antibióticos inhibieron por lo menos a una cepa de *S. aureus* mostrando que 11 antibióticos inhibieron a 8 aislados diferentes siendo este el mayor resultado en cuanto a inhibición se refiere.

Gráfica 6.

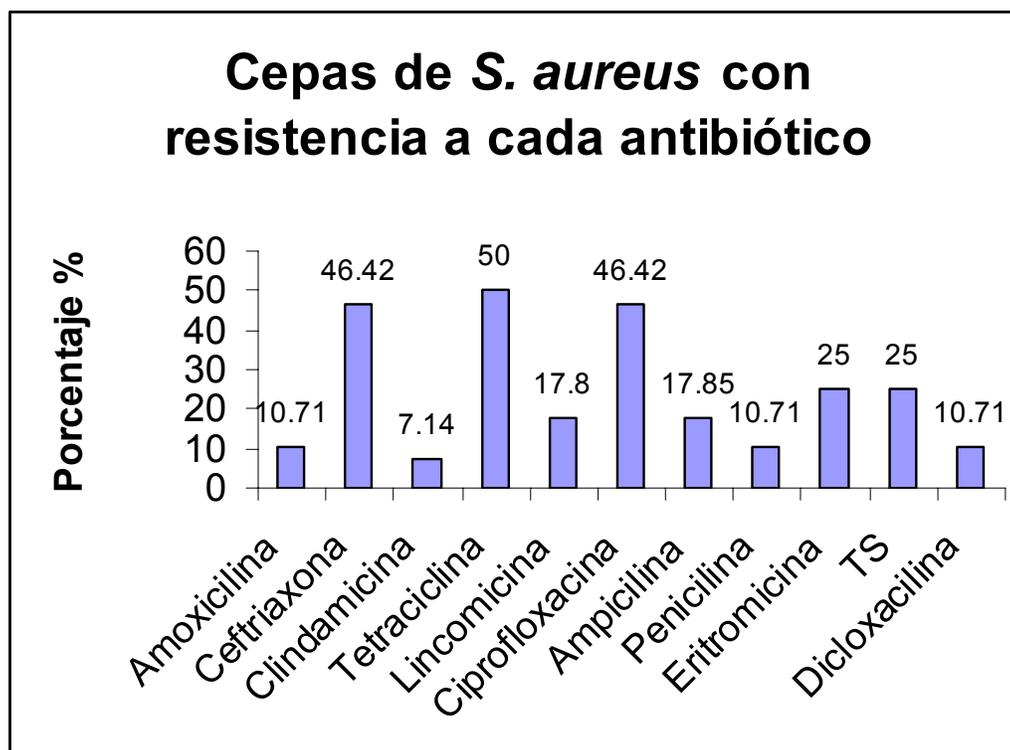
Porcentaje de cocos aislados de *S. aureus* en niños y niñas de cualquier edad que fueron sensibles a cada antibiótico utilizado



Ax: amoxicilina; Cx: ceftriaxona; Cd: clindamicina; Tt: tetraciclina; L: lincomicina; Cf: ciprofloxacino; Ac: ampicilina; Pen: penicilina; E: eritromicina; Ts: trimetoprim con sulfametoxazol; Dx: dicloxacilina.

En la gráfica se observa el porcentaje de cepas aisladas de *S. aureus* obtenidos de niños y niñas de cualquier edad que fueron sensibles a cada antibiótico empleado en el antibiograma. El 100% presentó sensibilidad a ceftriaxona, mientras que solo cerca de el 50 % de los aislados con *S. aureus* presentó sensibilidad a la tetraciclina.

Gráfica 7.



En esta gráfica se observa las cepas de *S. aureus* y la relación que éstas tienen con la resistencia a cada antibiótico, expresado en porcentajes de tal manera que la tetraciclina es el medicamento que presenta mayor resistencia (50%) mientras que las cepas aisladas presentaron menor resistencia a la clindamicina.

Tabla 4. Chi cuadrada

Población	Niñas	Niños	Total
Infectados	8	20	28
No infectados	55	55	110
Total	63	75	188

Grados de libertad: 1

Chi cuadrada = 4.13

p es menor o igual a 0.05.

La distribución es significativa.

En la tabla de Chi cuadrada se expresa el número de niñas y niños aislados con *S. aureus* sin importar la escolaridad a la que pertenecen ni su edad, se aprecia que existe una mayor probabilidad de contraer una infección por esta bacteria gram positiva en los infantes del sexo femenino.

CAPITULO VIII

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la prevalencia en niños tanto en etapa escolar como en primaria oscila en alrededor del 20%; en preescolares la prevalencia varía en esta cifra tanto en niñas como en niños sin embargo a nivel primaria las cifras varían para cada uno de los géneros, los niños presentan infección hasta de casi el 30 % en cambio en las niñas disminuye al 10 %. Estos resultados son similares o cercanos a los presentados en otros trabajos, a pesar de que se encuentra en otras regiones del cuerpo por ejemplo en infección periamigdalina en población infantil de España se encontró una prevalencia de 18.9% (García Callejo 2006); en portadores nasales asintomáticos de personal de diferentes hospitales del 27 al 38%³⁶ y en infecciones tonsilares prevalencias del 29.3% según Piedrota³⁷ En infecciones nasales se ha encontrado prevalencia del 35 a 50 %³⁸ En otro estudio de traqueitis bacteriana la prevalencia de infección por *S. aureus* fue de 42 %.³⁹

También podemos ver que a mayor edad se presenta mayor prevalencia de infección, las edades más frecuentes fueron entre 7 y 8 años en ambos sexos, una explicación a esto está directamente relacionada con los hábitos y costumbres puesto que la vía de transmisión es oral – nasal, de manera que conforme el niño presenta mayor desarrollo sus hábitos pueden verse modificados. Comienzan a independizarse y con ello el descuido a su persona que anteriormente era reforzada

su atención por sus padres o tutores. El hecho de que aumente la prevalencia en niños y disminuya en niñas se debe a que aquellos presentan mayor descuido en su higiene que las niñas. Otro factor que puede influir en el aumento de la prevalencia con la edad es el aumento de contacto con más gente conforme aumenta nuestro desarrollo lo cual incrementa la probabilidad de contacto con *S. aureus*. Esto mismo se puede explicar por el resultado de la relación entre las cepas de estafilococos *aureus* aisladas y el tipo de hemólisis que presenta puesto que se observa que los niños infectados en etapa preescolar las cepas de *S. aureus* presentan hemólisis gama, en cambio las cepas aisladas de niños en educación primaria presentan hemólisis beta seguidas por gama y alfa. Es probable que la transmisión de cepas beta hemolíticas se realice al tener contacto con portadores de estas bacterias de mayor edad, e inclusive si entran en contacto con unidades hospitalarias donde se ha visto que las prevalencias en personal médico pueden llegar a ser tan altas hasta del 50 %⁴⁰.

Con relación a la resistencia a antibacterianos por parte de las cepas de *S. aureus* aisladas la mayor resistencia fue dirigida a tetraciclina y ciprofloxacino, la resistencia a este último se observó en las cepas aisladas tanto en niñas como en niños en edad preescolar y escolar lo cual quiere decir que probablemente la transmisión de éste tipo de cepas ocurra a temprana edad y que la resistencia entre las distintas cepas es muy frecuente. Llama la atención que las cepas de *S. aureus* en niñas de etapa preescolar no presenta resistencia a tetraciclinas pero si a amoxicilina, por otro lado en los niños de ésta etapa las cepas presentan resistencia a ciprofloxacino y tetraciclinas pero no a amoxicilina. Esto no significa que haya restricción por el sexo sino que la transmisión de cepas resistentes a un determinado antibiótico es influenciada por la transmisión entre los mismos niños que puede variar entre los 2 géneros y que la transmisión de las cepas resistentes a ciprofloxacino se dé en una población mayor y a todas las edades como por ejemplo se ha visto que cepas uropatógenas adquieren resistencia a ciprofloxacino en un 43.8 % y 20.3% a amoxicilina en habitantes de España⁴¹

En aislados de sangre el 26.6 % de las cepas de *S. aureus* fue resistente a ciprofloxacino y 28.1 % a oxacilina. Estos resultados no se pueden generalizar para todas las poblaciones puesto que la resistencia varía en las diferentes cepas; ³⁶ por ejemplo encuentran que el 98% de las cepas de *S. aureus* provenientes del personal hospitalario son resistentes a meticilina y en este trabajo nosotros encontramos resistencia baja a penicilina, sin embargo ellos también encuentran resistencia a oxacilina en 21 % y Trimetoprim 5% y eritromicina 21%.⁴² encontraron resistencia a eritromicina del 23.8 % y nosotros encontramos la resistencia de 75 % a eritromicina en niñas de edad escolar.

Lo anterior puede indicar que la presencia de cepas de *S. aureus* en una población depende de múltiples factores como son características fenotípicas y genotípicas de las cepas, factores del huésped, medidas de control de las infecciones pero sobre todo los esquemas de tratamiento antimicrobiano ⁴³. La existencia de cepas de *S. aureus* y el hecho de dar erróneamente un esquema de tratamiento origina la selección de cepas que son resistentes a diferente antibiótico-, si a esto le agregamos su diseminación entre la población ocasionará la existencia de una cepa resistente a un determinado antibiótico y por otro lado el exceso de administración de un antibiótico sin conocer si es sensible origina que prevalezca en una población, que en este caso podría explicarse el hecho de que las cepas más comunes sean resistentes a tetraciclinas y a ciprofloxacina, sobre todo este último es administrado muy comúnmente. Otro antibiótico que comúnmente se aplica es la amoxicilina y que probablemente se explique que entre las niñas sea frecuente la presencia de *S. aureus* resistentes en niñas de etapa preescolar.

En este trabajo no se presentó relación entre resistencia a antibióticos y el tipo de hemólisis, la posible explicación es que genes de *S. aureus* que codifican para resistencia antibacteriana no están relacionados con genes implicados en el tipo de hemólisis por lo que no se tienen que expresar de manera simultánea, e incluso podemos pensar que en el ambiente habrán cepas de *S. aureus* con determinado

tipo de hemólisis pero con o sin resistencia a antibióticos. También podemos pensar que la virulencia de *S. aureus* no está relacionada con su capacidad de resistencia a antibióticos. Se sugieren realizar estudios a nivel molecular para demostrar si hay genes relacionados a resistencia a antibióticos, sobre todo que influyan en la virulencia de *S. aureus*.

CAPÍTULO IX

CONCLUSIONES

1. Uno de cada 5 niños sanos entre los 3 y 8 años es portador asintomático de *S. aureus* lo cual implica riesgo de transmisión en la población infantil y que el género no influye en la infección pero puede variar conforme avanza la edad.
2. La resistencia a antibióticos fue mas frecuente a tetraciclina y ciprofloxacino y la mayoría de las cepas es resistente a por lo menos un antibiótico indicando el riesgo de fracaso terapéutico en la mayor parte de las infecciones por *S. aureus*.
3. La hemólisis de *S. aureus* no está directamente relacionada con la resistencia a antibióticos.
4. La transmisión de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos se presenta desde etapas infantiles
5. Se sugiere la aplicación de antibiogramas para evitar la existencia de cepas de *S. aureus* con capacidad de resistencia a antibióticos.

BIBLIOGRAFÍA

Normas Vancouver ⁴⁴

1. Ryan JK, Microbiología medica una introducción a las enfermedades infecciosas, 4ta edición, Cd Mexico, DF: Ed. Mc Graw Hill Interamericana, 2005; 1
2. Jurado Jiménez R, Cantero Gálvez P, Rivero Roman A, Kindelán Jaquotot J M. Infecciones por *Staphylococcus* . Rev Medicine 2002; 25 : 17-20.
3. Crossley KB, Archer G L. The Staphylococcic Human Disease Churchill Livingstone Inc. New York; NY; 1997. 1: 2 – 18.
4. Shulman S. Enfermedades infecciosas. Bases clínicas y biológicas. 5ª. Ed. Ciudad de México. D.F: Editorial McGraw Hill Interamericana: 1997; 81
5. Gallego Luque c, Montero Pérez Barquero M, Cuadrado Marín P, Jurado Porcel A. Clasificación clínica de las enfermedades infecciosas. Rev Medicine 2002; 24: 7 – 16.
6. Camarena JJ, Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control Calidad SEIMC; 1999: 1: 1-9

7. Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. New England journal of medicine. 1998; 339: 520 – 532.
8. Bruseta A, Chávez F, Rojo P, Otero RJ. Emergencia de un clon de Staphylococcus aureus resistente a meticilina de origen comunitario en la población pediátrica del sur de Madrid. Enferm Infecc Microbiol Clin; 2006; 24 (1): 31 – 35.
9. Kaplan SL, Hulten KG, González BE, Hammerman WA, Lamberth L et al. Three years surveillance of community acquired Staphylococcus aureus infections in children. Clin infect dis. 2005; 40: 1785 – 1791.
10. Cercenado E, Sanchez Carrillo C, Alcalá L, Bouza E. Current Status of resistance of Staphylococcus in Spain. 4th Nacional study .1996; 197 (2): 12 - 18
11. Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guínea J, Sánchez Conde M, Sánchez Somolinos M, Bouza E, and the spanish group for the study of Staphylococcus. Evolution of the Antimicrobial Resistance of Staphylococcus spp. In Spain: Five Nationwide Prevalence Studies, 1986 to 2002. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2004; 48 (11): 4240–4245
12. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ. Survey of infection due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in United States, Canadá, Latinoamerica and the Western Pacific region for the SENTRY antimicrobial surveillance program 1997 – 1999. Clinical infectious diseases. 2001; 32 (12); S114 – S132.

13. Loganathan A, Arumainathan UD, Raman R. Comparative study of bacteriology in recurrent tonsillitis among children and adults. Singapore medical journal. 2005; 47 (4): 271.
14. Díaz Ramos MD, Solórzano Santos F, Padilla Barrón G, Miranda Novales MG, González Robledo R, Trejo y Pérez JA. Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. Salud pública de México. 1999; 41 (1): S12 – S17.
15. Richardson – López Collada B, Borgaro Pairo R, Jaramillo Bernal L, Fragoso Cuellar E, Newton Sánchez OA. Otitis media aguda en pediatría. Salud pública de México. 2002; 40: 450 – 455.
16. Calderan Jaimes E, Espinoza de los Monteros LE, Ávila Beltrán R. Epidemiología de la resistencia bacteriana. El caso de S. aureus y las infecciones coagulasa negativa. Salud pública de México. 2002; 44: 108 -112.
17. Martínez Aguilar G, Anaya Arriaga MC, Ávila Figueroa C. Incidencia de bacteriemia y neumonía nosocomial en una unidad de pediatría. Salud Pública de México. 2001; 43: 515 -523.
18. García Rodríguez JA, Fresnadillo Martínez MJ. Microbiología de la infección respiratoria pediátrica. An esp pediatr. 2002; 56 (1): 2 – 8.
19. Davis DD. Comparisson of resistance of the antibiotics, penicillin, erithromycin, oxacillin, cloramphenicol, and vancomycin in Staphylococcus aureus isolated from healty adults in the United States of America and México. Revista medica de la Universidad veracruzana. 2004; 4 (1): 5 – 9.

20. Shulman S. Enfermedades infecciosas. Bases clínicas y biológicas. 5ª. Ed. CD. De México. DF Editorial McGraw Hill Interamericana: 1997; 82
21. Shapiro ED. Epidemiology of acute respiratory infections. *Sem pediatr infect dis.* 1998; 9: 31 – 36.
22. Campbell H. Acute respiratory infection. A global challenger. *Arch dis child.* 1995; 73: 281 – 286.
23. Hemming VG. Viral respiratory disease in children classification, etiology, epidemiology and risk factors. *J pediatr.* 1994; 124: 13 – 16.
24. Andrade E, Bolívar A, Navarro P, Ugas C, Rodríguez J, Villaroel E. Evaluación bacteriológica de infecciones en niños por *Staphylococcus aureus*. *Archiv Ven de puer y ped* 2004; 67 (3) 132 – 135.
25. Craig WA. Temas del futuro de la resistencia antimicrobiana. *Enf infect y micro.* 2000; 20 (5): 172 – 177.
26. Toraño G, Quiñones D, Hernández I, Hernández T, Tamargo I, Borroto S. Portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina entre niños cubanos que asisten a círculos infantiles. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2001; 19: 367-370.
27. Hernández Vadell T, Toraño Peraza GT, González M. González Bonet I. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina detección de portadores entre niños hospitalizados y sanos de la comunidad. *Rev cubana med trop.* 2003; 55: 153 – 161.
28. Paniagua Contreras GL, Monroy Pérez E, Vaca Pacheco S, González Almazán SE. *Revista médica del hospital general de México* SS. 2003; 66 (1) 13 – 21.

29. Kloose WE, Bannerman TL. Staphylococcus and micrococcus. Manual of clinical microbiology. 6^a. Ed. Washington D.C. 1995.
30. Stuart Walker T. Microbiología. Filadelfia, Pensilvania Estados Unidos. McGraw Hill Interamericana. Cap. 2: 37 – 51. 2000.
31. kennet J Ryan. Generalidades. Sherris de microbiología médica. Una introducción a las enfermedades infecciosas. Nueva York, NY. 4^a. Ed. 2005 pp 1 -12.
32. Harry JB. Diagnòstico y tratamiento clinico para laboratorio. 8^a Ed. Estados Unidos. Salvat Mèxico, 1991; Vol. 1-2.
33. Mensa J. Gatell JM, Asanza JR. Guía de terapéutica antimicrobiana. 15^a Ed. Barcelona. Masson. 2005; Cap 1, pp 2-37.
34. Dellinger PE, Gross PA, Barrett TL et al. Quality standard for antimicrobial prophylaxis in surgical procedures. Infect Control Hosp Epidemiol 1994;182-188.
35. Kritchevsky SB, Simmons BP. Toward better antibiotic use in hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 1994;15: 688-670.
36. Sanabria R., Laspina F., Balmaceda R., Samudio M., Fariña N., Campusano de Rollon A., Portación Nasal de S. aureus en personal hospitalario, frecuencia y patrón de sensibilidad antimicrobiana. Departamento de microbiología del instituto de investigaciones en ciencias de la salud UNA. Memorias del IICS, 2003 Vol.2 N° 1.
37. Piedrota Maroto D., Montiel Quezel N., López Rodríguez I., y colls. Present situation of antibiotic resistances in tonsillar infections. Unidad de ORL, Hospital Costa del Sol, Marbella, Málaga. Acta Otorrinolaringol Esp. 2006 Apr; 57(4):171-5

38. Garcia A. M., Villa V., Escudero M. E., Gómez P., Vellez M. M., Munera M. I., Franco G. Use of nasal mupirocin for *Staphylococcus aureus*: effect on nasal carriers and nosocomial infections. Laboratorio de biología molecular, clínica cardiovascular Santa Maria, Medellín Colombia. Biomedica. 2003 Jun;23(2):173-9
39. Marcos Alonso S., Molini Mechon N., Rodríguez Núñez A., Martínón Torres F., Martínón Sánchez J. N. Traqueitis bacteriana: una causa infecciosa de obstrucción de la vía aérea que hay que considerar en la infancia. AN Pediatric 2005. 76-80
40. Vázquez Nava F., Casados Robledo J. S., Beltran Guzman F. J., Departamento de alergia e inmunología clínica. Hospital Regional, Ciudad Madero Tamaulipas. Eosinophils in peripheral blood and nasal mucus, in asthmatic and healthy subjects. Rev Alerg Mex. 1998 Jan-Feb;45(1):4-8
41. Martín Salas C., Gil-setas A., Mason A. Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias mas frecuentes. Anales del Sistema sanitario de Navarra. 2006 vol. 29 no. 1, 27-36
42. Oteo J, Prucharga S., Campos J., Antonio Sáenz J., Vaquero F., Resistencia a antibióticos en *S. aureus* aislados de sangre en 31 hospitales españoles de la red europea de vigilancia de resistencia a antibióticos. Medicina clinica de Barcelona 2002, 361-360
43. Velásquez Mesa M.E. Seguimiento y diseminación de *S. aureus* meticilina resistente. Salud publica de México 2005, vol 47 no. 5, 381-387
44. Oropeza – Abúndez C, Atrian – Salazar M, Fuentes Ramírez M. Normas para la publicación de manuscritos en Salud Pública de México. Salud pública de México 1997, vol. 39, no. 1, 75 – 82

12. ANEXOS.

Anexo 1 Nutritivo, Agar

DATOS GENERALES	
Nombre completo	Agar Nutritivo
Consistencia	Sólido
Tipo de medio	General
Campos de aplicación*	1,2,3
Especificaciones	Medio de cultivo de uso general para microorganismos poco exigentes.
Foto disponible	NO

1	Clínica y Hospitalaria	2	Industria farmacéutica
3	Veterinaria	4	Microbiología Alimentaria
5	Microbiología Láctea	6	Industria cosmética
7	Educación, I+D y Control de calidad		

COMPOSICIÓN EN g/l	
Extracto de carne	1.0
Extracto de levadura	2.0
Peptona	5.0
Cloruro sódico	5.0
Agar-agar	15.0
Aditivos	No precisa
Cantidad a disolver en g/l de medio	28

INDICACIONES POR GÉNEROS DE MICROORGANISMOS	
Aislamiento	No indicado
Cultivo/Mantenimiento	Bacillus E.coli, coliformes & Proteus Pseudomonas Salmonella & Shigella Staphylococcus Streptoc., Enteroc. & Lactococcus
Identificación	No indicado

INDICACIONES POR GRUPOS DE MICROORGANISMOS		
Enterobacterias	2 . 3	
Pseudomonas y otros no fermentadores	2 . 3	
Bacterias del ácido láctico y otras	2 . 3	0. No indicado
Anaerobios	2 . 3	1. Enriquecimiento
Hongos (Mohos y Levaduras)	2 . 3	2. Cultivo/Mantenimiento
Microorganismos Lipolíticos		3. Aislamiento
Algas y protozoos		
Microorganismos proteolíticos		

Anexo 2 PRUEBA DE CATALASA

Se utiliza para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo. La principal excepción es *Streptococcus*.

Originariamente, esta prueba era utilizada para diferenciar entre los siguientes géneros:

- *Streptococcus* (-) de *Micrococcus* (+) y/o *Staphylococcus* (+).
- *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-).
- *Lysteria monocytogenes* (+) y/o *Corynebacterium* (+, con las excepciones de *C.pyogenes* y *C.haemolyticum*, ambos -) de *Erysipelothrix* (-)

Una prueba de rutina de la catalasa a temperatura ambiente puede hacerse siguiendo dos técnicas:

1. Método del portaobjetos (recomendado):

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 18-24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio de vidrio.
- Agregar con gotero o pipeta Pasteur una gota de H_2O_2 al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.
- Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).
- Desechar el portaobjetos en un recipiente con desinfectante.
- Si se invierte el orden del método (extender la colonia sobre el agua oxigenada) pueden producirse falsos positivos.

2. Método del tubo de ensayo:

- Agregar 1ml de H_2O_2 al 3% directamente a un cultivo puro de agar en slant densamente inoculado.

- Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).

Precauciones: Si se utilizan para esta prueba cultivos procedentes de agar sangre, se debe tener la precaución de no retirar algo de agar con el asa al retirar la colonia ya que los eritrocitos del medio contienen catalasa y su presencia dará un falso resultado positivo.

Anexo 3 Tinción Gram

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asa de siembra
- Cubeta de tinción
- Cultivo bacteriano
- Pinzas
- Frasco lavador
- Mechero de alcohol
- Papel de filtro
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol-acetona
- Safranina

REALIZACIÓN

1. Preparar los frotis bacterianos.
2. Teñir con cristal violeta 1min.
3. Lavar con abundante agua el exceso de colorante.
4. Cubrir con Lugol 1min.
5. Lavar con agua el exceso de Lugol.
6. Decolorar con alcohol-acetona o simplemente con alcohol hasta que la preparación deje de perder color (30seg)
7. Lavar con abundante agua para eliminar el resto de disolvente.
8. Teñir con safranina 1min.
9. Lavar con agua para eliminar el colorante de contraste.
10. Secar la preparación.
11. Examinar al microscopio fijándose sobre todo en el color de cada preparación.

Los tiempos de exposición a los colorantes son orientativos. Cada vez que se prepara la batería de colorantes para realizar la tinción Gram presentan algunas diferencias respecto a los preparados en otro momento, por lo que puede ser necesario ajustar los tiempos.

En un laboratorio de Microbiología, cada vez que se preparan los colorantes, se suelen hacer pruebas con cultivos patrón de los dos tipos (Gram+ y Gram-) para ajustar así los tiempos y tener la certeza de que el resultado de todas las tinciones que se hagan mientras duren esos colorantes son fiables.

Otra posibilidad es adquirir el equipo completo de colorantes ya preparados, pero es mucho más caro.