



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



**DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, EN MUESTRAS DE SECRECIÓN DE  
HERIDAS Y ABSCESOS EN PACIENTES DE 20 A 70 AÑOS,  
INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DE MEDICINA HOMBRE Y MEDICINA  
MUJER EN EL HOSPITAL NACIONAL SAN JUAN DE DIOS, DE LA  
CIUDAD DE SAN MIGUEL, EN PERÍODO DE JULIO A SEPTIEMBRE DE  
2005**

**INFORME FINAL PRESENTADO POR:  
JYMY HENDRYKS HUEZO MEJÍA  
LORENA XIOMARA ÁVALOS ARÉVALO  
CHRISTIAN RAFAEL LAZO RIVERA**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIADO(A) EN LABORATORIO CLÍNICO**

**DOCENTE DIRECTOR:  
LIC. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA.**

**NOVIEMBRE DE 2005**

**SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**AUTORIDADES**

**DRA. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ**  
**RECTORA**

**ING. JOAQUÍN ORLANDO MACHUCA GÓMEZ**  
**VICERRECTOR ACADÉMICO**

**DRA. CARMEN ELIZABETH RODRÍGUEZ DE RIVAS**  
**VICERRECTORA ADMINISTRATIVA**

**LICDA. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RESINO**  
**SECRETARIA GENERAL**

**FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL**

**ING. JUAN FRANCISCO MÁRMOL CANJURA**  
**DECANO INTERNO**

**LICDA. GLORIA ELIZABETH LARIOS DE NAVARRO**  
**VICEDECANA INTERINO**

**LICDA. LOURDES ELIZABETH PRUDENCIO COREAS**  
**SECRETARIA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**DRA. LIGIA JEANNET LÓPEZ LEIVA**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO**

**LICDA. LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA.**

**COORDINADORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**LICDA. ELBA MARGARITA BERRÍOS CASTILLO**

**COORDINADORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN**

**LICDA. . LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA**  
**DOCENTE DIRECTOR**

**LIC. MARCELINO MEJÍA CONZÁLEZ.**  
**ASESOR DE ESTADÍSTICA**

**LICDA. ELBA MARGARITA BERRÍOS CASTILLO**  
**ASESORA DE METODOLOGÍA**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A NUESTRO PADRE JEHOVÁ DIOS**

Agradecemos infinitamente por la oportunidad que nos brindó de haber finalizado satisfactoriamente nuestros estudios universitarios e iluminando nuestras vidas.

### **A NUESTROS ASESORES**

LICENCIADA LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA,

LICENCIADA ELBA MARGARITA BERRÍOS CASTILLO.

Con mucho respeto y admiración, por habernos brindado su atención, dedicación y paciencia durante el desarrollo de esta investigación.

### **A NUESTROS FAMILIARES Y AMIGOS.**

Con mucho cariño, por darnos su apoyo y compañía en esta etapa de nuestras vidas.

### **A TODOS LOS QUE FUERON NUESTROS DOCENTES**

Que con su esfuerzo y conocimientos, nos orientaron en nuestra formación académica a lo largo de la carrera.

**JYMY, LORENA Y CHRISTIAN**

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS PADRE CELESTIAL EL TODO PODEROSO**

Por guiarme en el camino de la sabiduría e iluminarme a lo largo de mis estudios universitarios.

### **A MI ABUELA.**

Angélica de Jesús Benavides, con mucho cariño por su apoyo económico e incondicional a quien recordaré y extrañaré a lo largo de mi vida.

### **A MI MADRE.**

Gloria Orbelina Huevo Benavides, con infinito amor por su comprensión, apoyo moral y económico brindado a lo largo de mi vida.

### **A MIS TÍOS.**

Saúl Ávalos Coreas y Angela Huevo vda de Ávalos, de manera especial por estar siempre conmigo y apoyarme económica y emocionalmente e mi formación universitaria.

### **A MIS PRIMOS Y AMIGOS.**

Por estar siempre pendiente de mi y apoyarme en los momentos de alegría y tristeza.

**JYMY HENDRYKS HUEZO MEJIA**

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS TODO PODEROSO:**

Por iluminar mis pensamientos y permitirme obtener este triunfo.

### **A MIS PADRES:**

José Ofilio Arévalo Lozano e Idilia de Jesús Ávalos, con mucho cariño y respeto por su confianza permanente.

### **A MIS HERMANOS:**

José Alcides, Amalia de Jesús, Araceli del carmen de Arriola, Gloria del Carmen, José Vidal, Reina Elizabeth, Aracelis y José Ofilio (Que de Dios gocé), con amor fraternal.

### **A LA LICDA LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA**

De manera muy especial por haberme orientado oportunamente en la realización de este trabajo.

### **A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO Y DEMÁS AMIGOS:**

Como prueba de mi amistad.

**LORENA XIOMARA AVALOS ARÉVALO**

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS TODO PODEROSO:**

Por iluminar mis pensamientos y permitirme obtener este triunfo.

### **A MIS PADRES:**

Miguel Arnoldo Lazo Parada y Daysi Melani Rivera de Lazo, con mucho cariño y respeto por su confianza permanente.

### **A MI HERMANA:**

Gisela Guadalupe Lazo Rivera, con amor fraternal.

### **A LA LICDA LORENA PATRICIA PACHECO HERRERA**

De manera muy especial por haberme orientado oportunamente en la realización de este trabajo.

### **A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO Y DEMÁS AMIGOS:**

Como prueba de mi amistad y compañerismo.

**CHRISTIAN RAFAEL LAZO RIVERA**

**DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA  
ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*,  
EN MUESTRAS DE SECRECIÓN DE HERIDAS Y  
ABSCESOS EN PACIENTES DE 20 A 70 AÑOS,  
INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DE MEDICINA  
HOMBRE Y MEDICINA MUJER EN EL HOSPITAL  
NACIONAL SAN JUAN DE DIOS, DE LA CIUDAD DE  
SAN MIGUEL, EN PERÍODO DE JULIO A  
SEPTIEMBRE DE 2005.**

## ÍNDICE

CONTENIDO	PÁG.
Resumen .....	xvii
Introducción.....	xix
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.</b>	
1.1. Antecedentes de la problemática .....	23
1.2. Enunciado del problema .....	25
1.3. Objetivos de la investigación .....	27
1.3.1. Objetivo general .....	27
1.3.2. Objetivos específicos .....	27
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.</b>	
2.1. Género <i>Staphylococcus</i> . Generalidades .....	29
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
2.2.1. Morfología .....	30
2.2.2. Características macroscópicas .....	31
2.2.3. Características fisiológicas .....	31
2.2.4. Características bioquímicas .....	32
2.2.5. Características identificativas .....	32
2.2.6. Estructura celular .....	33
2.2.6.1. Cápsula .....	33
2.2.6.2. Peptidoglucano .....	34
2.2.6.3. Proteína .....	34
2.2.6.4. Ácido teicoico .....	35
2.2.6.5. Factor de agrupamiento .....	35
2.2.6.6. Membrana citoplasmática .....	35

2.2.7.	Factores de virulencia e inmunidad .....	36
2.2.7.1.	Toxinas .....	36
2.2.7.2.	Enzimas .....	40
2.2.8.	Aspectos epidemiológicos .....	43
2.2.9.	Mecanismos de defensa del huésped .....	45
2.2.10.	Manifestaciones clínicas .....	45
2.3.	Agentes antimicrobianos .....	46
2.3.1.	Tratamiento antibacteriano .....	47
2.3.2.	Fuentes de agentes antibacterianos .....	47
2.3.3.	Espectro de acción .....	49
2.3.4.	Antimicrobianos que actúan en la síntesis de la pared celular .....	49
2.3.4.1.	Antimicrobianos lactámicos $\beta$ .....	50
2.3.4.2.	Antimicrobianos glucopeptídicos .....	57
2.3.5.	Inhibidores de la síntesis de proteínas .....	57
2.3.5.1.	Aminoglucósidos.....	57
2.3.5.2.	Tetraciclinas .....	60
2.3.5.3.	Cloranfenicol .....	61
2.3.5.4.	Macrólidos .....	63
2.3.5.5.	Clindamicina .....	64
2.3.5.6.	Oxazolidinomas .....	64
2.3.5.7.	Estreptograminas.....	64
2.3.6.	Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos .....	65
2.3.6.1.	Quilononas .....	65
2.3.6.2.	Inhibidores del folato .....	66
2.3.7.	Antimicrobianos que actúan sobre las membranas externas y citoplasmáticas .....	69
2.4.	Resistencia bacteriana .....	70
2.4.1.	Origen de las cepas resistentes .....	72

2.4.2.	Mecanismos de resistencia .....	73
2.4.2.1.	Barreras de acumulación .....	73
2.4.2.2.	Blanco alterado .....	74
2.4.2.3.	Desactivación enzimática .....	75
2.4.2.4.	Enzimas Modificadoras .....	75
2.4.3.	Genética de la resistencia .....	76
2.4.3.1.	Resistencia intrínseca .....	76
2.4.3.2.	Resistencia adquirida .....	77
2.5.	Antibiograma .....	79
2.5.1.	Difusión en disco .....	79
2.5.2.	Utilidad .....	79
2.5.3.	Principio del método .....	80
2.5.4.	Antimicrobianos seleccionados .....	80
2.5.5.	Control de calidad .....	81
2.5.6.	Control del inóculo .....	81
2.5.7.	Interpretación de resultados .....	82
2.5.8.	Reproducibilidad .....	83
2.6.	Definición de términos .....	84

### **CAPÍTULO III: SISTEMA DE HIPÓTESIS**

3.1.	Hipótesis general .....	91
3.2.	Hipótesis nula .....	91
3.3.	Hipótesis específicas .....	92
3.4.	Hipótesis nulas .....	92
3.5.	Operacionalización de las variables .....	93

### **CAPÍTULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO**

4.1.	Tipo de investigación .....	95
4.2.	Universo poblacional .....	96

4.3.	Criterios de inclusión y exclusión .....	96
4.3.1.	Criterios de inclusión .....	96
4.3.2.	Criterios de exclusión .....	96
4.4.	Técnicas de obtención de información .....	97
4.5.	Técnicas de trabajo de campo .....	97
4.6.	Técnicas de laboratorio .....	97
4.7.	Instrumentos .....	98
4.8.	Equipo, Material y Reactivo.....	99
4.9.	Procedimiento .....	101

## **CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS**

5.1	Tabulación, Análisis e Interpretación de los datos .....	106
5.2	Comprobación de la hipótesis general.....	118
5.3	Comprobación de las hipótesis específicas.....	119

## **CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

6.1.	Conclusiones .....	122
6.2.	Recomendaciones .....	124

<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	125
---------------------------	-----

## **ANEXOS**

1.	Cronograma de la investigación.....	130
2.	Cronograma específico de la ejecución .....	131
3.	Especies que presentan los <i>Staphylococcus</i> .....	132
4.	Estructura microscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	133
5.	Estructura y reacción tintorial de <i>Staphylococcus aureus</i> ....	134
6.	Morfología macroscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	135
7.	Esquema de la estructura antigénica de <i>Staphylococcus</i>	

<i>aureus</i> .....	136
8. Preparación agar Mueller Hinton ( 1000 ml ).....	137
9. Preparación agar sangre (1000 ml).....	138
10. Forma adecuada de toma de muestras de secreciones de heridas.....	139
11. Forma adecuada de toma de muestras de secreciones de abscesos.....	140
12. Inoculación de los medios de cultivo.....	141
13. Prueba de la catalasa.....	142
14. Prueba de la coagulasa.....	143
15. Preparación del inóculo.....	144
16. Inoculación en el medio de Mueller Hinton.....	145
17. Selección y dispensación de los discos.....	146
18. Lectura de los resultados.....	147
19. Control de calidad con cepa control de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	148
20. Control del inóculo.....	149
21. Parámetros de clasificación de los halos de inhibición para la monitorización de los resultados de los antibiogramas.....	150
22. Diario de campo .....	151

## RESUMEN

Por medio de la investigación realizada se determinó la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos, para lo cual se observaron y analizaron 64 muestras de pacientes con edades entre 20 a 70 años ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer en el “Hospital Nacional San Juan de Dios” del departamento de San Miguel, en el período comprendido de julio a septiembre de 2005; a los que se les aisló la bacteria en estudio y se les realizó el antibiograma con su respectivo control de calidad, con el objetivo de determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en muestras de secreciones de heridas y abscesos en dicha población. Además, se establecieron como objetivos específicos identificar los antibióticos a los que presenta mayor resistencia *Staphylococcus aureus*, determinar la edad de los pacientes en estudio en la cual *Staphylococcus aureus* presenta mayor resistencia a los antibióticos, y monitorear la técnica de sensibilidad antimicrobiana en dicho periodo. Dichas metas propuestas al inicio de la investigación fueron cubiertas en su totalidad.

El tipo de estudio realizado fue analítico, de campo y transversal; y se aplicó un diario de campo por cada muestra analizada; los datos obtenidos fueron ordenados y tabulados en donde se obtuvieron los siguientes resultados:

*Staphylococcus aureus*, presenta mayor resistencia a la eritromicina con un 73.40 %, seguido de un 59.40 % que corresponde a la penicilina.

Por otra parte la mayor resistencia de *Staphylococcus aureus* a más de tres antibióticos, la presentaron los pacientes mayores de 40 años, con un 66.70 % de resistencia contra un 44.10 % perteneciente a pacientes menores de 39 años.

En el estudio se observó que mediante el control de calidad realizado en la técnica de sensibilidad antimicrobiana se obtuvieron resultados confiables y reproducibles, dándole así validez externa e interna a la investigación.

Que la resistencia a los antibióticos de *Staphylococcus aureus* es de 85.95 % en el presente año. Por lo que se concluye que el control de calidad se hace necesario para dar confiabilidad a los resultados y así evitar los errores “muy importantes”.

De las hipótesis planteadas se aceptaron las que aseguraban que no existe un aumento de la resistencia de *Staphylococcus aureus* contra los antimicrobianos. Además que esta bacteria posee mayor resistencia a la eritromicina en relación a la penicilina, que las personas mayores de 40 años presentarían mayor resistencia a los antibióticos, y que la monitorización de los resultados daría resultados confiables.

## INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana, es una de las características que presentan algunos microorganismos patógenos, especialmente las bacterias. Mediante la prueba de sensibilidad antimicrobiana, se puede tratar el agente bacteriano que causa infección; además de ser una herramienta que se utiliza en el laboratorio para determinar la resistencia que presenta *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos frente a un determinado agente antibacteriano.

La determinación de la resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus* en el año 2004 fue de 80.00 %, por lo cual representa un problema importante de salud en nuestro país, ya que la población debe recurrir a antibióticos más potentes y de mayor costo, pues los convencionales no cumplen con la sensibilidad adecuada para el tratamiento de las infecciones.

La inclinación por este estudio se centró en el interés por dar a conocer a las autoridades competentes cuál es la resistencia antimicrobiana que presenta *Staphylococcus aureus*, en muestras de secreciones provenientes de pacientes de ambos sexos ingresados en los servicios de medicina hombres y medicina mujeres del “Hospital Nacional San Juan de Dios”, de la ciudad de San Miguel; durante los meses de julio a septiembre de 2005. Y así poner en alerta a estas autoridades de cuál es el comportamiento de esta bacteria y la problemática que ésta lleva implícita para el personal de salud así como a la población que puede enfrentar las infecciones causadas por este coco gram positivo. Además de proyectar la importancia en la reeducación sobre la “no automedicación”.

En este documento se presentan los resultados de la investigación; para ello se ha estructurado en seis capítulos los cuales se describen a continuación:

En el capítulo uno se presenta el planteamiento del problema que comprende los antecedentes de cómo el fenómeno se ha estado desarrollando durante el último trimestre del año 2004, también se enuncia en forma de interrogante el problema al cual se le dió respuesta a medida se realizó el estudio. Por otra parte la investigación tuvo como objetivo general determinar la resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus* en muestras de secreción de heridas y abscesos en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer en el “Hospital Nacional San Juan de Dios”, de la ciudad de San Miguel, durante el período de julio a septiembre de 2005; además de conocer los antibióticos a los que presenta mayor resistencia *Staphylococcus aureus*, la edad de los pacientes en estudio en la cual *Staphylococcus aureus* presenta mayor resistencia a los antibióticos y la calidad de los resultados mediante la monitorización de técnica de sensibilidad antimicrobiana durante el tiempo que se realizó la ejecución de la investigación.

El capítulo dos contempla el marco teórico en donde se sustentan las bases teóricas de esta investigación que conforman el marco teórico en el cual se describe la resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus*; (generalidades, morfología, fisiología, estructura, resistencia bacteriana, mecanismos de resistencia entre otros) y la definición de términos básicos, que facilitan la comprensión del lector.

El capítulo tres comprende el sistema de hipótesis que establece la asociación de los hechos y así guía el cuestionamiento científico que dirigió la investigación y su relación con las variables para operacionalizarlas.

En el capítulo cuatro se encuentra el diseño metodológico en la cual se describe el tipo de investigación, las técnicas de recolección de datos, la instrumentación y procedimientos a seguir para un buen desarrollo sistemático del estudio y comprobación de las hipótesis.

En el capítulo cinco se dan a conocer los resultados de la investigación a través de la tabulación, análisis e interpretación de los datos lo cual ayudó a percibir la teoría en forma más clara y así poder comprobar las diferentes hipótesis del objeto en estudio las cuales pueden ser válidas o inválidas.

En el capítulo seis se presentan las conclusiones y recomendaciones a las cuales se llegó fundamentando los resultados y sugerir como se pueden desarrollar acciones prácticas en pro de la salud salvadoreña.

Seguidamente se mencionan las referencias bibliográficas de todos los documentos, direcciones electrónicas, libros y revistas de donde se obtuvo información para esta investigación. Por último se muestra una serie de anexos los cuales sirven para reforzar y proporcionar una mejor orientación de los elementos y argumentos que contribuyen a la comprensión del trabajo de investigación.

# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

#### **PRINCIPALES HALLAZGOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y SU RESISTENCIA ANTIBACTERIANA**

Este agente fue reconocido por primera vez por Kock en 1878, descritos y cultivados por Pasteur en 1880. Posteriormente fueron aislados en muestras de pus por Ogston en 1881. En 1884 Rosembach los cultivó en medios artificiales.

En 1929, Fleming aisló la penicilina de *Penicillium notatum*, y en 1941 Florey Chain y colaboradores hicieron posible la producción comercial de la penicilina iniciando su uso clínico.

“A partir del año 1945, se reporta la primera cepa de *Staphylococcus aureus*, que producía una proteasa de la serina (penicilinas) capaz de hidrolizar el anillo  $\beta$ -lactámico que inactiva al antibiótico”.<sup>1</sup>

La mayoría de la cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la penicilina contienen plásmidos que le permiten producir una  $\beta$ -lactamasa extra celular que hidroliza e inactiva a la penicilina.

La resistencia a la penicilina fue demostrada mediante la prueba de difusión en agar, es el método de Kirby Bauer; que fué desarrollado al principio de la

---

<sup>1</sup> [http://66.102.7.104/search?q=cache:2KD\\_DI8P1dUJ:www.scielo.org.ve/scielo.php](http://66.102.7.104/search?q=cache:2KD_DI8P1dUJ:www.scielo.org.ve/scielo.php) (Consultado el 19/05/05)

década de 1960 por Willim Kirby, A.W. Bauer y sus colaboradores en la Washington Medical School.

Entre 1960 y 1964, se produjeron varios antibióticos semisintéticos resistentes a la penicilinasas: oxacilina y aminoglucósidos como la gentamicina y la tobramicina, entre otros.

En 1961 se aislaron cepas resistentes a metilcilina en Europa, y actualmente se han identificado en el resto del mundo.

“Todos los *Staphylococcus aureus*, resistentes a la oxacilina lo son también a la cefalosporina, y generalmente son sensibles a la vancomicina”.<sup>2</sup>

En 1996 fue reportado en Japón el primer aislado clínico de *Staphylococcus aureus* con susceptibilidad disminuida a la vancomicina. En julio de 2002 se reporta en Pensylvania la primera infección clínica por *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina.

A lo largo de varios años se han incorporado al arsenal terapéutico alrededor de 200 compuestos con función antibiótica lo que aparentemente hacían suponer que las bacterias patógenas terminarían siendo derrotadas en todos los frentes, en la actualidad la situación no es tan optimista, ya que muchos de esos antibióticos no son útiles, porque cada vez la resistencia bacteriana a distintos antibióticos esta más extendida.

La aparición de formas insensibles a la vancomicina significa que está abriendo el camino a variedades bacterianas, que no se podrán tratar con

---

<sup>2</sup> Idem.

ninguno de los antibióticos conocidos. *Staphylococcus aureus*, es uno de los principales agentes etiológicos causantes de infecciones hospitalarias.

En El Salvador, no existe un estudio que demuestre la resistencia bacteriana a *Staphylococcus aureus* y los datos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), tampoco reflejan en los informes epidemiológicos sobre esta bacteria.

Según datos obtenidos del Hospital Nacional San Juan de Dios, en el último trimestre de 2004, el *Staphylococcus aureus*, presentó una resistencia en general a los antibióticos de un 80.00 %. Los datos del 2004 demuestran que la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la eritromicina es de 68.0 %, seguido de su resistencia a la penicilina en un 51.0% lo que demuestra que *Staphylococcus aureus* se vuelve cada vez más patógeno, reduciendo así el espectro de acción de los antibióticos de primera generación.

## **1.2 ENUNCIADO DEL PROBLEMA.**

Actualmente la automedicación y la venta no controlada de antibióticos por parte de muchos centros no autorizados y personas que no cuentan con el conocimiento adecuado, hace que la sensibilidad de los microorganismos en especial de *Staphylococcus aureus*, mute y el espectro de acción de los antibióticos se ve reducido, lo que provoca mayores complicaciones y costos al paciente.

A partir de lo antes expuesto, se enuncia el problema de la siguiente manera:

¿La resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* se encuentra aumentada, en muestras de secreción de heridas y abscesos en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, en el Hospital Nacional San Juan de Dios?

También se trató de darle respuesta a las siguientes interrogantes específicas:

¿Cuál es el antibiótico, al que presenta mayor resistencia *Staphylococcus aureus* en la población base?

¿Qué edad de la población objeto de estudio presenta mayor resistencia del *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos?

¿Cuál es la base para obtener resultados óptimos de la sensibilidad antimicrobiana durante la ejecución de la investigación?

### 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

#### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, en muestras de secreción de heridas y absceso en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, en el Hospital Nacional “San Juan de Dios”, de la ciudad de San Miguel.

#### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar los antibióticos a los que presenta mayor resistencia *Staphylococcus aureus* en la población base.
- Determinar la edad de los pacientes en estudio en la cual *Staphylococcus aureus*, presenta mayor resistencia a los antibióticos.
- Monitorear la técnica de sensibilidad antimicrobiana durante el tiempo de ejecución de la investigación.

# **CAPÍTULO II**

## **MARCO TEÓRICO.**

## 2 MARCO TEÓRICO.

### 2.1 GÉNERO *STAPHYLOCOCCUS*.

Los *Staphylococcus* son células esféricas, que suelen estar distribuidas en grupos irregulares a manera de racimos de uvas (su denominación se deriva de la palabra Griega Staphyle, que quiere decir racimo de uvas) también se encuentran aislados en parejas y en cadenas cortas. Como todos los cocos importantes desde el punto de vista médico, son gram positivos de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro; carecen de flagelos, no tienen movilidad, crecen mejor en condiciones aerobias en muchos tipos de medios, pero son anaerobios facultativos y son activos desde el punto de vista metabólico; fermentan los carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y de las mucosas del hombre; su importancia médica radica en que es el agente etiológico de un gran número de infecciones. En el hombre puede producir procesos inflamatorios supurativos en casi cualquier tejido, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Los *Staphylococcus* patógenos hemolizan a menudo la sangre, coagulan el plasma y producen diversas enzimas y toxinas extra celulares que producen cuadros clínicos de muy diversas manifestaciones. Un tipo común de envenenamiento alimentario es producido por una enterotoxina estafilocócica termoestable. Los *Staphylococcus* desarrollan con rapidez resistencia a muchos agentes antimicrobianos y plantean problemas terapéuticos difíciles lo que significa un gran peligro, debido a la colonización en el hombre.

Actualmente se reconocen un total de 33 especies, 17 de las cuales son encontradas en muestras clínicas (Ver anexo No 3). Los *Staphylococcus aureus* pertenecen a: Reino: Procariotae, División: Firmicotes, Clase: Firmibacteria, Orden: Micrococales, Familia: Micrococcacea, Género: *Staphylococcus*, Especie: *aureus*.

## **2.2 STAPHYLOCOCCUS AUREUS.**

### **2.2.1 MORFOLOGÍA.**

En los cultivos en crecimiento, las células de *Staphylococcus aureus* son uniformes gram positivas, su característica morfológica más obvia es la notable tendencia a presentarse como masas de células, aparentando racimos de uva. Ello es consecuencia de una división celular en tres planos, junto a la tendencia de las células hijas de permanecer en estrecha proximidad para crear el aspecto característico. Estos grumos irregulares son tridimensionales al examinar preparaciones frescas (Ver anexo No 4); pero en los frotis teñidos usuales los grumos están aplanados creando el aspecto de láminas irregulares de células. La forma de cocos tiende a ser de tamaño mucho más uniforme que los otros tipos morfológicos de bacterias; tienen un diámetro aproximado de 1 mm, típicamente son casi perfectos en su forma esférica, son inmóviles, no forman esporas, pilis, ni flagelos. (Ver anexo No 5). En cultivos viejos, lesiones en procesos de mejoría y en presencia de algunos antibióticos, a menudo las células se vuelven de tamaño más variable y muchas pierden positividad a la coloración de Gram. Los cocos jóvenes se tiñen fácil e intensamente con los colorantes básicos

usuales de tinción simple (cristal violeta) y son fuertemente gram positivas; al envejecer muchas células se vuelven gram negativas.

### **2.2.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS.**

Los *Staphylococcus aureus* crecen bajo condiciones aeróbicas o microaerofílicas, en la mayoría de los medios bacteriológicos usuales de extracto de carne y peptona, pero lo hacen de manera más profusa en agar sangre. Estos crecen rápidamente a 37°C. Las colonias son redondeadas, uniformes, lisas, elevadas y resplandecientes; forman pigmentos de color gris a amarillo intenso. (Ver anexo No 6).

### **2.2.3 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS.**

Los *Staphylococcus aureus*, son relativamente resistentes al calor, y hasta cierto grado, a desinfectantes, que las formas vegetativas de la mayor parte de las bacterias. Mientras casi todas las bacterias mueren en 30 minutos a 60°C, los *Staphylococcus aureus* a menudo necesitan temperaturas mayores por más tiempo, como 80°C en una hora. También son resistentes a la desecación y pueden conservarse infecciosos por periodos prolongados y capaces de crecer en concentraciones relativamente altas de cloruro de sodio.

#### **2.2.4 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS.**

Los *Staphylococcus aureus* producen catalasa y son capaces de fermentar lentamente varios tipos de carbohidratos, produciendo ácido láctico pero no gas, fermentación de manitol, también se forman pequeñas cantidades de etanol y bióxido de carbono, aunque la fermentación de los azúcares usuales y alcoholes polihídricos es irregular. La mayor parte de los *Staphylococcus* tiene la capacidad de coagular el plasma, por medio de la coagulasa. Otra característica bioquímica importante es la presencia de estafilolisinas, que casi invariablemente son hemolíticos.

#### **2.2.5 CARACTERÍSTICAS IDENTIFICATIVAS.**

“Las principales características identificativas de *Staphylococcus aureus* que sirven para su diferenciación de otras especies del género son:

- I) producción de coagulasa
- II) sensibilidad al disco de 5 mg de novobiocina
- III) actividad fosfatasa alcalina
- IV) producción aeróbica de ácido a partir de D-trealosa y D-manitol
- V) producción de desoxirribonucleasa termoestable”.<sup>3</sup>

Las cepas de *Staphylococcus aureus* dan positivas, además, las siguientes reacciones:  $\beta$ -glucosidasa, arginina descarboxilasa, N-cetilglucosamina, acetoina, ureasa, y reducción de nitratos.

---

<sup>3</sup> [http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/sarm.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/sarm.htm) (consultado el 20/05/05 )

## **2.2.6 ESTRUCTURA CELULAR.**

La pared celular de *Staphylococcus aureus*, está constituida por un peptidoglucano grampositivo típico intercalado con moléculas de un ácido ribitol-teicoico, que es un antígeno y relativamente específico para *Staphylococcus aureus*. En la mayor parte de las cepas, el peptidoglucano está cubierto por proteínas de superficie; una de ellas, la proteína A, es única porque fija a la porción Fab de las moléculas de IgG, y deja dirigida hacia el exterior la porción Fc reactiva con el antígeno. Este fenómeno se ha explotado en los sistemas de estudio para identificar antígenos libres. Probablemente contribuye a la virulencia de *Staphylococcus aureus* debido a que interfiere con la opsonización. (Ver Anexo No 7)

### **2.2.6.1 CÁPSULA.**

En ocasiones, se observa una cápsula de polisacárido suelta en los *Staphylococcus* cultivados in vitro, pero se cree que su presencia es más común in vivo. La cápsula protege las bacterias mediante inhibición de la quimiotaxis y la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares, y de la proliferación de las células mononucleares después de la exposición a mitógenos. También facilita la adherencia de las bacterias a los catéteres y otros materiales sintéticos (por ejemplo: injertos, válvulas y articulaciones protésicas)

### **2.2.6.2 PEPTIDOGLUCANO.**

La capa de Peptidoglucano, compuesta de cadenas de glicano entrecruzadas con péptidos, es el principal componente estructural de la pared celular. Las cadenas de glicano están constituidas por aproximadamente 10 a 12 subunidades alternantes de ácido N-cetilglucosamina. “Las cadenas laterales tetrapeptídicas están unidas a las subunidades de ácido N-acetilmurámico, y las cadenas de glicano son entrecruzadas después por puentes peptídicos entre las cadenas laterales”.<sup>4</sup> Esta capa con actividad similar a la endotoxina, puede atraer a los leucocitos polimorfonucleares (formación de abscesos) y activa el complemento.

### **2.2.6.3 PROTEÍNA.**

La superficie de la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* está uniformemente tapizada por proteína A. Esta proteína se encuentra unida de forma covalente a la capa de Peptidoglucano, y tiene afinidad peculiar por el receptor Fc de las inmunoglobulinas IgG1, IgG2, e IgG4, con lo que evita de modo eficaz la eliminación inmunológica mediada por anticuerpos del microorganismo. La proteína A extracelular se une también a los anticuerpos, formando inmunocomplejos con consumo consiguiente de complemento.

---

<sup>4</sup> <http://www.rincondelvago.com/antibiograma.html> (consultado el 25/05/05)

#### **2.2.6.4 ÁCIDO TEICOICO.**

Los ácidos teicoicos son polisacáridos complejos, que contienen fósforo, unidos a la capa de peptidoglucano y la membrana citoplasmática. La adherencia de los *Staphylococcus* a las superficies mucosas está mediada por los ácidos teicoicos de la pared, a través de su unión específica con la fibronectina. Aunque los ácidos teicoicos son malos inmunógenos, estimulan una respuesta de anticuerpos específicos cuando se unen al peptidoglucano.

#### **2.2.6.5 FACTOR DE AGRUPAMIENTO.**

La superficie externa de la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* contienen factor de agrupamiento o coagulasa de unión. Esta proteína se une al fibrinógeno y puede hacer que los *Staphylococcus* formen grumos o se agrupen.

#### **2.2.6.6 MEMBRANA CITOPLASMÁTICA**

La membrana citoplasmática es un complejo de proteínas, lípidos y una pequeña cantidad de hidratos de carbono, que forman una barrera osmótica para las células y proporcionan un sitio de anclaje para las enzimas biosintéticas y respiratorias celulares.

## **2.2.7 FACTORES DE VIRULENCIA E INMUNIDAD.**

### **2.2.7.1 TOXINAS.**

“*Staphylococcus aureus* produce un gran número de factores de virulencia, que incluye por lo menos cinco toxinas citolíticas dañinas para las membranas (alfa, beta, delta, gamma y Leucocidina), y cinco enterotoxinas”.<sup>5</sup> Las toxinas citolíticas se han denominado también hemolisinas, pero las actividades de las cuatro primeras no se limitan a los hematíes, mientras que la leucocidina es incapaz de lisar los eritrocitos. Las citotoxinas pueden lisar neutrófilos, con liberación de enzimas lisosómicas y lesión consiguiente de los tejidos vecinos.

### **TOXINA ALFA.**

Esta toxina es citotóxica secretada por casi todas las cepas de *Staphylococcus aureus*. Lisa las membranas celulares mediante inserción directa en la bicapa lípida, para formar poros transmembranales, como resultado, la salida de moléculas vitales por esos poros produce muerte celular. “Es semejante a la de otras citolíticas biológicamente activas, produce hemólisis sobre hematíes, lesiona plaquetas. También altera el músculo liso de los vasos sanguíneos. Se cree que la toxina alfa es un mediador importante de lesión tisular en la enfermedad estafilocócica y causa necrosis cuando se inyecta por vía subcutánea”.<sup>6</sup>

---

<sup>5</sup> [http://www.ups.com/content/mx/es/resources/select/receiving/services/express\\_plus.html](http://www.ups.com/content/mx/es/resources/select/receiving/services/express_plus.html)  
(consultado el 19/05/05)

<sup>6</sup> Idem.

### **TOXINA BETA.**

Esta toxina llamada esfingomielinasa C, es una proteína termolábil tóxica para diversas células, incluyendo hematíes, leucocitos, macrófagos y fibroblastos. Cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana en las células susceptibles, y la intensidad de la lisis es proporcional a la concentración de esfingomielina expuesta en la superficie celular. Se cree que la toxina beta, junto con la alfa, son responsable de la destrucción tisular y formación de abscesos características de las enfermedades estafilocócicas, y de la capacidad de *Staphylococcus aureus* para proliferar en presencia de una respuesta inflamatoria vigorosa.

### **TOXINA DELTA.**

Se trata de una proteína heterogénea, grande y termoestable. Tiene una amplia gama de actividades hemolíticas, lesiona linfocitos, plaquetas y neutrófilos. Lo que está de acuerdo con la creencia de que la toxina delta altera las membranas celulares.

### **TOXINA GAMMA.**

Lisa los hematíes. Aunque se necesitan dos proteínas distintas para producir la actividad de la toxina, no se ha definido el momento de acción.

## **LEUCOCIDINA.**

Esta toxina tiene un componente F y otro S. Ninguno de los dos poseen por sí solos actividad apreciable contra la membrana leucocítica. Sin embargo, la combinación de las dos moléculas provoca cambios estructurales de la membrana celular, formación de poros y aumento de permeabilidad.

## **TOXINA EXFOLIATIVA.**

El síndrome de la piel escaldada estafilocócica, un espectro de enfermedades caracterizadas por dermatitis exfoliativa, está mediado por la acción de la toxina exfoliativa, conocida también como exfoliatina o toxina exfoliativa. Se han identificado dos formas distintas de toxina exfoliativa ( A y B ).

Estudios estructurales han demostrado que la exposición a la toxina provoca división de los puentes Intercelulares (desmosomas) en la capa granulosa de la epidermis externa. La toxina no se asocia con citólisis o inflamación. Tras la exposición a la toxina aparecen anticuerpos neutralizantes protectores, lo que conduce a resolución del proceso tóxico.

## **TOXINAS 1 DEL SÍNDROME DEL CHOQUE TÓXICO**

“El síndrome del choque tóxico, es una enfermedad multisistémica caracterizada por un síndrome clínico que incluye fiebre, hipotensión, vértigo ortostático, eritrodermia y vómitos de variada intensidad”.<sup>7</sup> Comparte

---

<sup>7</sup> Elmer W. Koneman. Diagnóstico Microbiológico. 5ª Edición. Pág. 534.

muchas propiedades con la enterotoxina estafilocócica; de hecho durante la evolución de su descubrimiento se le confundió con una de ellas. Esta toxina puede estimular la descarga de citocinas por medio del mecanismo de superantígeno; pero también puede causar efectos tóxicos directos sobre las células endoteliales, que en ocasiones producen fuga capilar, hipotensión y choque.

### **SUPERANTÍGENOS DE TOXINA PIRÓGENA**

Los superantígenos de toxina pirógena (PTSAg) constituyen una familia de proteínas secretadas capaces de estimular efectos generales a causa de su absorción desde el sitio en que son producidas por estafilococos que se están multiplicando. Una cepa individual puede producir una o más toxinas, pero menos del 10% de las cepas de *Staphylococcus aureus* produce algún PTSAg. Estas toxinas comparten semejanzas en las actividades fisicoquímicas y biológicas. Como los superantígenos, son poderosamente mitógenos para las células T y no requieren procesamiento proteolítico antes de fijarse en la moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor (MHC) de la clase II sobre las células presentadoras de antígeno. “Interactúan con la moléculas MHC de la clase II fuera del surco peptídico antigénico y son específicos para la región VB del receptor de la célula T. Por ello, la toxina puede activar las células T como a los macrófagos para que descarguen cantidades masivas de citocinas, en particular factor alfa de necrosis tumoral e interleucina. Otras actividades de estas toxinas, son pirogenicidad y aumento de la susceptibilidad a los efectos letales de la endotoxina”.<sup>8</sup>

---

<sup>8</sup> Sherris. Microbiología Médica. Pág. 287.

## **ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS**

Desde hace mucho se conoce la capacidad de la enterotoxina de *Staphylococcus aureus* para producir síntomas del tubo digestivo (vómito) en seres humanos y animales. Existen varias proteínas de peso molecular bajo que son diferentes desde el punto de vista antigénico, algunas de ellas codificadas por bacteriófagos templados. Una vez formadas estas toxinas son muy estables y mantienen su actividad incluso desde la ebullición o del contacto con enzimas gástricas y yeyunales. Además de las acciones mediadas por superantígeno, actúa directamente sobre los receptores nerviosos de la parte alta del tubo digestivo.

### **2.2.7.2 ENZIMAS.**

#### **COAGULASA.**

Poseen dos formas de coagulasa: de unión (Llamada también factor de agrupamiento) y libre. La coagulasa unida a la pared celular estafilocócica puede convertir directamente el fibrinógeno en fibrina insoluble y hacer que los *Staphylococcus aureus* formen grumos. La libre obtiene los mismos resultados mediante reacción con un factor plasmático globulínico (factor reacción con la coagulasa), para formar un factor similar a la trombina, la estafilotrombina. Este factor cataliza la conversión del fibrinógeno en fibrina insoluble. El papel de la coagulasa en la patogenia de la enfermedad es especulativo, pero la enzima puede provocar formación de una capa de

fibrina alrededor del absceso estafilocócico, lo que cataliza la infección y protege al microorganismo frente a la fagocitosis.

### **CATALASA.**

Todos los estafilococos producen catalasa, una enzima protectora que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno tóxico. Esta sustancia se acumula durante el metabolismo bacteriano o es liberada después de la fagocitosis, para convertirse en agua y oxígeno.

### **HIALURONIDASA.**

“Esta enzima actúa sobre el ácido hialurónico, presente en el pegamento de las células de los tejidos, favoreciendo así la difusión de la bacteria en los tejidos”.<sup>9</sup>

### **FIBRINÓLISIS.**

Esta enzima, llamada también estafilocinasa, activa el plasminógeno, lo transforma en plasmina y éste actúa sobre la fibrina rompiendo enlaces peptídicos.

---

<sup>9</sup> Romero Cabello, Microbiología y Parasitología Humana, 2ª Edición, Pág. 258.

## **ADHESINA.**

“Es una sustancia protéica que favorece el anclaje de las bacterias a la membrana citoplasmática de las células de los tejidos del huésped”.<sup>10</sup>

## **LIPASAS.**

Son varias enzimas que actúan sobre diferentes sustratos (aceites, grasas, ceras). Como su nombre lo indica, estas enzimas hidrolizan lípidos lo que resulta esencial para la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en las áreas sebáceas del cuerpo. Se cree que las lipasas son necesaria para la invasión de los tejidos cutáneos y subcutáneos y formación de infecciones cutáneas superficiales (ejemplo: furúnculos).

## **NUCLEASA.**

Es una enzima termoestable que tiene propiedades endonucleotídicas y exonucleotídicas, puede actuar sobre el ADN y el ARN produciendo licuación del material, es un factor de difusión.

## **PENICILINASA.**

Cuando se introdujo la penicilina, más del 90% de los aislados estafilocócicos eran sensibles a ella. Sin embargo, el microorganismo desarrolla resistencia con rapidez, mediada sobre todo por la producción de

---

<sup>10</sup> Idem.

penicilinasa ( $\beta$ -lactamasa). La amplia diseminación de la enzima es asegurada por su presencia en plásmidos transmisibles.

### 2.2.8 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

El hábitat humano típico de *Staphylococcus aureus* es la porción anterior de las fosas nasales, otros sitios menos frecuentes son la piel, el cabello, las uñas, las axilas, el perineo o la vagina (hasta en el 10% de las mujeres que menstrúan). Cerca del 30% de las personas porta el microorganismo en ese sitio en un momento dado, pero este porcentaje puede ser mucho mayor entre el personal del hospital y los pacientes hospitalizados. Algunos portadores nasales e individuos con colonización de otros sitios, como el perineo, pueden diseminar con amplitud el microorganismo con las células epiteliales descamadas, lo que constituye una fuente de infección para otras personas. El problema central para comprender el enlace entre la colonización y la enfermedad consiste en el potencial incrementado de producir el padecimiento, no hay manera de predecir cuales son. A diferencia de muchos microorganismos vegetativos patógenos, *Staphylococcus aureus* puede sobrevivir largos períodos de desecación; pueden producirse infecciones cutáneas recurrentes por el uso de ropas contaminadas por pus de una infección previa.

“Los brotes en hospitales causados por una sola cepa de *Staphylococcus aureus* suelen afectar a pacientes que experimentan una infección estafilocócica franca o no manifiesta que se disemina directamente a otros pacientes por medio de las manos del personal del hospital”.<sup>11</sup> Otra fuente de infección puede ser un portador nasal o perineal del personal del

---

<sup>11</sup> Sherris. Ob. Cit. Pág. 289.

hospital, médico, de enfermería o de otra clase; en particular si se trata de un portador que disemina numerosos microorganismos. La fuente más peligrosa es un médico a cargo que desempeña su trabajo profesional a pesar de tener una infección estafilocócica como un furúnculo. Los brotes de infección por *Staphylococcus aureus* pueden perpetuarse por sí mismo. Los pacientes infectados y quienes los atienden se convierten a menudo en portadores, con lo que aumenta las cargas total y ambiental del estafilococo causante.

El contagio lo constituye el contacto de persona a persona a través de las manos contaminadas. Una vez rotas las barreras de la piel o las mucosas los *Staphylococcus aureus* se diseminan en los tejidos y se multiplican rápidamente produciendo generalmente furúnculos o abscesos localizados en los que se produce necrosis y localización de la lesión gracias a las hemolisinas y coagulasa, entre otras. Sin embargo, es posible que los gérmenes alcancen el torrente circulatorio o el linfático por ruptura de la pared de fibrina que limita los abscesos o por accidente y producir cuadros severos que comprometen la vida de los huéspedes. Las manifestaciones clínicas de la bacteremia es similar a la de otras y la formación de abscesos en los órganos del cuerpo se acompaña de manifestaciones de disfunción en los órganos afectados.

La procedencia y tipo de espécimen que se envía al laboratorio es de suma importancia ya que cuando se aísla *Staphylococcus aureus* siempre será considerado patológico.

### **2.2.9 MECANISMO DE DEFENSA DEL HUÉSPED**

El principal mecanismo de defensa del huésped, lo constituye la integridad de las barreras formadas por la piel y las mucosas. En aquellos individuos que presentan trastornos en la piel o procesos crónicos en la misma son más susceptibles a contraer infecciones por *Staphylococcus*. Un elemento que contribuye de forma importante en la defensa del huésped es la actividad de los neutrófilos; por el contrario, otros elementos de la respuesta inflamatoria desempeñan un rol menos protagónico.

De esta manera, se considera que aquellos huéspedes que poseen cuadros de neutropenia así como los que padecen de trastornos funcionales de los neutrófilos pueden estar asociados a infecciones recurrentes por *Staphylococcus aureus*. Probablemente por el hecho de que los *Staphylococcus* son agentes patógenos hospitalarios, los pacientes con enfermedades crónicas también son frecuentemente afectados por infecciones por *Staphylococcus aureus*.

### **2.2.10 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.**

La inyección estafilocócica localizada se manifiesta como grano, infección de un folículo piloso o absceso. Suele haber una reacción inflamatoria dolorosa localizada intensa que experimenta supuración central y cura con rapidez cuando se drena el pus. La pared de fibrina y células alrededor del centro del absceso tienden a prevenir la diseminación de los microorganismos y no debe romperse mediante manipulación o traumatismo. Se puede producir también infección por *Staphylococcus aureus* por contaminación directa de una herida, por ejemplo, infección

estafilocócica post operatoria de la herida o infección después de traumatismo (Osteomielitis crónica) subsecuente a una fractura abierta.

### **2.3. AGENTES ANTIBACTERIANOS.**

La capacidad para dirigir el tratamiento de manera específica contra el agente causal de una enfermedad es única del tratamiento de las enfermedades infecciosas. Su éxito inicial depende de qué tanto se aprovechen las diferencias entre la apariencia y el metabolismo del ser humano y los del microorganismo en cuestión. El éxito continuo depende de que los microorganismos a los que se dirigió originalmente el fármaco desarrollen o no resistencia.

En épocas antiguas, la medicina popular utilizó materiales naturales que tienen cierta actividad contra los microbios, como la corteza del árbol de la quina (contiene quinina) en el tratamiento del paludismo. Las aplicaciones racionales de la quimioterapia comenzaron con el desarrollo que hizo Ehrlich de los compuestos arsenicales para el tratamiento de la sífilis a principios del siglo XX. Muchos años pasaron hasta que en 1935 se dió el siguiente gran avance: el descubrimiento de Domagk de la efectividad terapéutica de una sulfonamida. Para ese momento la penicilina, que había sido descubierta por Fleming en 1929, aún no podía purificarse en forma adecuada; sin embargo, esto se logró más tarde y la penicilina se produjo en cantidades suficientes para que Florey y sus colegas pudieran demostrar su efectividad clínica a principios de los años 1940. Se han descubierto o desarrollado muchos antimicrobianos nuevos y muchos llegaron hasta la aplicación en la práctica clínica.

### **2.3.1. TRATAMIENTO ANTIBACTERIANO.**

Todos los antimicrobianos con efectividad clínica tienen toxicidad selectiva contra el parásito y no contra el huésped, una característica que los distingue de los desinfectantes. En la mayoría de los casos, la toxicidad selectiva se explica por la acción sobre procesos o estructuras microbianos distintos de los de las células de los mamíferos. Por ejemplo, algunos agentes actúan sobre la síntesis de la pared celular y otros sobre las funciones de la subunidad 70S del ribosoma bacteriano, pero no sobre la subunidad 80S del ribosoma eucariota. Algunos agentes antimicrobianos, como la penicilina, carecen de efectos tóxicos para el huésped, a menos que éste haya desarrollado hipersensibilidad. En otros, como los aminoglucósidos, la dosis terapéutica efectiva es cercana a la dosis tóxica, por lo que el control de la dosis y del nivel sanguíneo debe ser mucho más preciso.

### **2.3.2. FUENTES DE AGENTES ANTIMICROBIANOS.**

Existen tres tipos de agentes antimicrobianos según su fuente de origen. Los primeros son los antibióticos de origen biológico, que probablemente cumplen una función importante en la ecología microbiana en el ambiente natural. Por ejemplo, hay varios mohos del género *Penicillium* que producen penicilina, y el prototipo de los antibióticos conocidos como cefalosporinas se obtuvo de otros mohos. “La mayor fuente de antibióticos naturales es el género *Streptomyces*, cuyos miembros son bacterias gram positivas ramificantes que se encuentran en suelos y sedimentos de agua dulce”.<sup>12</sup> La estreptomicina, las tetraciclinas, el cloranfenicol, la eritromicina,

---

<sup>12</sup> Ibidem, Pág. 214.

y muchos otros antibióticos se descubrieron mediante la detección de grandes cantidades de aislados de *Streptomyces* de distintas partes del mundo. Los antibióticos se producen en masa mediante técnicas derivadas de los procedimientos de la industria de la fermentación.

Los segundos son los agentes antimicrobianos sintetizados mediante procesos químicos, que se descubrieron entre compuestos sintetizados con otros fines y se probaron en animales para valorar su efectividad terapéutica. Por ejemplo, las sulfonamidas se descubrieron como resultado de la detección rutinaria de los pigmentos de anilina. En fechas más recientes se sintetizaron compuestos activos con estructuras ajustadas para ser inhibidores o competidores efectivos de vías metabólicas conocidas. El trimetoprim, que inhibe la reductasa de dihidrofolato, es un buen ejemplo de ello.

“El tercer tipo de antimicrobianos es resultado de la manipulación molecular de antibióticos o quimioterapéuticos existentes, para ampliar su espectro e intensidad de actividad contra los microorganismos o para mejorar sus características farmacológicas”.<sup>13</sup> Los ejemplos incluyen el desarrollo de penicilinas resistentes a la penicilinasasa y de amplio espectro, así como un amplio grupo de aminoglucósidos y cefalosporinas con mayor actividad, espectro más amplio y resistencia a las enzimas que las desactivaban.

---

<sup>13</sup> Idem.

### **2.3.3. ESPECTRO DE ACCIÓN.**

El espectro de actividad de cada antimicrobiano describe los géneros y especies contra los que tiene actividad. Los espectros se sobreponen, pero casi siempre son característicos para cada clase de antimicrobianos. Algunos antibacterianos se conocen como agentes de espectro angosto; por ejemplo, la bencilpenicilina tiene una gran actividad contra muchos cocos gram positivos y gram negativos, pero poca contra bacilos entéricos gram negativos. Por otro lado, el cloranfenicol, la tetraciclina y las cefalosporinas son agentes de amplio espectro que inhiben a un amplio grupo de bacterias gram positivas y gram negativas, incluidos algunos microorganismos intracelulares obligados. Cuando una especie o un género que al principio era sensible desarrolla resistencia, aún se le considera dentro del espectro, aunque el subgrupo resistente sea significativo. Por ejemplo, se considera que el espectro de la bencilpenicilina incluye a *Staphylococcus aureus*, aunque ahora más de 80% de las cepas sea resistente a la penicilina.

### **2.3.4. ANTIMICROBIANOS QUE ACTÚAN EN LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR.**

La forma y rigidez de la pared celular bacteriana se deben a su componente peptidoglicano (saco de mureína), “una molécula gigante de estructura parecida a una canasta que se forma por el entrelazamiento de los glicanos lineales N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. El peptidoglicano maduro se mantiene unido por enlaces cruzados de las cadenas laterales peptídicas cortas que cuelgan de las largas moléculas de glicano”.<sup>14</sup> Este proceso de formación de enlaces cruzados es el objetivo de

---

<sup>14</sup> Ibidem, Pág. 216

dos de los grupos más importantes de antimicrobianos, los lactámicos beta y los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina).

#### **2.3.4.1. ANTIMICROBIANOS LACTÁMICOS BETA.**

Los antibióticos lactámicos beta incluyen a las penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas y monobactamas. Sus nombres provienen de la presencia de un anillo lactámico beta en su estructura que es esencial para su actividad antibacteriana. La penicilina, el primer miembro de esta clase, se obtuvo de mohos del género *Penicillium* y los lactámicos beta naturales posteriores se obtuvieron tanto de mohos como de bacterias del género *Streptomyces*. Hoy en día es posible sintetizar lactámicos beta, pero la mayor parte se obtiene mediante procesos semisintéticos que implican la modificación química de los productos de la fermentación.

Los antimicrobianos lactámicos beta interfieren en las reacciones de transpeptidación que sellan los enlaces cruzados peptídicos entre las cadenas de glicanos, gracias a que entorpecen la acción de la enzima que forma esos enlaces cruzados: la transpeptidasa. Estos blancos de todos los lactámicos beta a menudo se llaman proteínas de unión con penicilina (PBP, por sus siglas en inglés), lo que refleja la naturaleza estereoquímica de su interferencia, que se describió por primera vez en experimentos con penicilina. En cualquier cepa existen varias PBP, casi siempre son específicas de cada especie y su afección por unirse con los diferentes lactámicos beta varía.

“Los lactámicos beta se clasifican por su estructura química: Pueden tener un anillo lactámico beta (monobactamas) o un anillo lactámico beta

fusionado con un anillo penem de cinco elementos (penicilinas, carbapenemas) o con un anillo cefem de seis elementos (cefalosporinas )”.<sup>15</sup> Dentro de estos grupos principales, las diferencias en las cadenas laterales unidas al anillo sencillo o doble pueden tener un efecto significativo en las propiedades farmacológicas y el espectro de cualquier lactámico beta. Las propiedades farmacológicas incluyen resistencia al ácido gástrico lo que permite la administración oral y un patrón característico de distribución en los compartimientos corporales (por ejemplo: sangre, líquido cefalorraquídeo, articulaciones). Las características que alteran el espectro incluyen permeabilidad hacia la célula bacteriana, afinidad por las PBP y vulnerabilidad a los diversos mecanismos bacterianos de resistencia.

Los antimicrobianos lactámicos beta casi siempre son bactericidas, pero sólo para las bacterias en crecimiento que sintetizan nuevas paredes celulares. La destrucción bacteriana incluye atenuación y rotura de la “faja” de peptidoglicano en desarrollo, liberación o activación de las enzimas autolíticas que rompen aún más las áreas debilitadas de la pared y por último, lisis osmótica por el paso de agua a través de la membrana citoplásmica hacia el interior hiperosmolar de la célula. Como es de esperar, los microorganismos con pared deficiente, como *Mycoplasma*, no son susceptibles a los lactámicos beta.

## **PENICILINAS**

“Las penicilinas siguen siendo los de primera elección en muchas infecciones. Actúan rompiendo la pared bacteriana”.<sup>16</sup> Esta penicilinas

---

<sup>15</sup> Ibidem, Pág. 216.

<sup>16</sup> <http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm> (consultado el 23/05/05)

pertenece a la familia de enzimas bacterianas llamadas lactamasas beta que desactivan a los antimicrobianos lactámicos beta. La penicilina G tiene actividad sobre todo contra microorganismos gram positivos, cocos gram negativos y algunas espiroquetas, incluida la de la sífilis. Las penicilinas tienen poca acción contra la mayoría de los bacilos gram negativos porque la membrana externa de éstos impide el paso de los antibióticos a sus sitios de acción en la síntesis de la pared celular. La penicilina G es la menos tóxica y la menos costosa de todas las penicilinas. Su modificación como penicilina V le confiere estabilidad al ácido, por lo que puede administrarse por vía oral.

Las penicilinas resistentes a la penicilinasasa (metilina, nafcilina, oxacilina) también tienen espectros estrechos, pero tienen actividad contra *Staphylococcus aureus* productor de penicilinasasa. Las penicilinas de espectro más amplio deben su actividad a su capacidad para cruzar la membrana externa de algunas bacterias gram negativas. Algunas, como la ampicilina, tienen una acción excelente contra un espectro significativo de patógenos gram negativos, pero no contra *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno oportunista importante. Otras, como la carbenicilina y la ticarcilina, tienen efecto contra *Pseudomonas* cuando se administran en dosis altas, pero son menos activas que la ampicilina contra algunos microorganismos gram negativos. Las penicilinas con espectro de gram negativos son un poco menos efectivas que la penicilina G contra las bacterias gram positivas, y se desactivan con la penicilinasasa estafilocócica.

## **CEFALOSPORINAS**

“La estructura de las cefalosporinas les confiere resistencia a la hidrólisis por la penicilinasasa estafilocócica y las lactamasas beta de algunos

grupos de bacilos gram negativos, los cuales varían con cada cefalosporina”.<sup>17</sup> Las cefalosporinas se clasifican por generaciones: primera, segunda, tercera o cuarta. El término “generación” se refiere a los avances en la expansión de su espectro mediante la modificación de las cadenas laterales. En general, una cefalosporina de mayor generación tiene un espectro más amplio y, en algunos casos, mayor actividad cuantitativa (menor concentración inhibitoria mínima, CIM) contra bacterias gram negativas. Conforme aumenta el espectro de gram negativos, estos agentes pierden parte de su potencia (mayor CIM) contra las bacterias gram positivas.

La cefazolina y cefalexina son cefalosporinas de primera generación; que tienen un espectro de acción contra microorganismos gram positivos similar al de las penicilinas resistentes a la penicilinasa, y además tienen actividad contra algunas *Enterobacteriaceae*. Estos agentes conservan su valor terapéutico por su intenso efecto contra agentes gram positivos y por que tal vez sea innecesario un espectro más amplio.

La cefoxitina y cefaclor son cefalosporinas de segunda generación, éstas son resistentes a las lactamasas beta de algunos microorganismos gram negativos que desactivan a las cefalosporinas de primera generación. Un rasgo muy importante es su actividad extendida contra especies de la clase *Enterobacteriaceae* y contra anaerobios como *Bacteroides fragilis*.

Las cefalosporinas de tercera generación, como ceftriaxona, cefotaxima y ceftacidima, tienen un espectro aún más amplio, tienen actividad contra microorganismos gram negativos, a menudo con CIM que son 10 a 100 veces menores que para los compuestos de la primera

---

<sup>17</sup> Sherris. Ob. Cit. Pág. 218.

generación. De estos tres agentes, solo ceftacidima conserva un efecto consistente contra *Pseudomona aeruginosa*. La potencia, el espectro amplio y la baja toxicidad de estas cefalosporinas las convirtieron en los agentes preferidos para el tratamiento de infecciones que ponen en riesgo la vida en las que aún no se aísla el agente causal. La selección depende de las circunstancias clínicas. Por ejemplo, se prefieren la ceftriaxona o la cefotaxima para meningitis infantil porque tiene mayor actividad contra los tres principales agentes causales: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Para un paciente febril que recibió trasplante de médula ósea, podría elegirse ceftacidima por la posibilidad de que la causa sea *Pseudomona aeruginosa*.

Las cefalosporinas de cuarta generación tienen mayor capacidad para cruzar la membrana externa de las bacterias gram negativas, y además son resistentes a las lactamasas beta de muchos agentes gram negativos. Los compuestos como la cefepima son efectivos contra un espectro aún más amplio de *Enterobacteriaceae*, además de *Pseudomona aeruginosa* estas cefalosporinas conservan la gran afinidad y actividad de los agentes de tercera generación contra *Neisseria* y *Haemophilus influenzae*.

## **CARBAPENEMAS**

Las carbapenemas imipenem y meropenem tienen el espectro más amplio de todos los antibióticos lactámicos beta. Este hecho parece deberse a la combinación de su fácil penetración de las células bacterianas gram negativas y gram positivas con un alto nivel de resistencia a las lactamasas beta. Ambos agentes tienen actividad contra estreptococos, mayor efectividad que las cefalosporinas contra estafilococos y una gran actividad

contra *Haemophilus influenzae* y cepas de gonococos con y sin lactamasa beta. Además, tienen tanta efectividad contra los bacilos gram negativos como las cefalosporinas de tercera generación y son efectivos contra anaerobios obligados. Imipenem se hidroliza con rapidez por efecto de una dehidropeptidasa-1 tubular renal; por lo tanto, se administra junto con un inhibidor de esta enzima (cilastatina), lo cual mejora mucho sus niveles urinarios y otras características farmacocinéticas. El meropenem no sufre una degradación importante por la dehidropeptidasa-1 y no necesita administrarse junto con la cilastatina.

## **MONOBACTAMAS.**

“Tienen un anillo  $\beta$ -lactámico monocíclico y resisten a la acción de las  $\beta$ -lactamasa”.<sup>18</sup> El aztreonam, la primera monobactama, tiene un espectro limitado a las bacterias gram negativas aerobias y anaerobias facultativas, incluidas *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus* y *Neisseria*, de la clase *Enterobacteriaceae*. Las monobactamas tienen poca afinidad por las PBP de microorganismos gram positivos y anaerobios, por lo que tienen poca actividad contra ellos; sin embargo, son muy resistentes a la hidrólisis por lactamasas beta de los bacilos gram negativos. Las infecciones agregadas por anaerobios y las distorsiones importantes en la flora intestinal son menos frecuentes en el tratamiento con aztreonam que con otros antimicrobianos lactámicos beta de amplio espectro, tal vez porque el aztreonam no produce una supresión generalizada de los anaerobios intestinales.

---

<sup>18</sup> Jawetz, Meinck. Microbiología Médica. 13ª Edición. Pág. 163.

## **INHIBIDORES DE LACTAMASA BETA**

Varios lactámicos beta con poca o ninguna actividad antimicrobiana pueden unirse de manera irreversible a las enzimas lactamasas beta y desactivarlas durante el proceso. Tres de estos compuestos, ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, se conocen como inhibidores de suicidio porque primero deben hidrolizarse por acción de una lactamasa beta, para luego convertirse en desactivadores efectivos de la enzima. Son muy efectivos contra las penicilinas estafilocócicas y las lactamasas beta de amplio espectro; sin embargo, su capacidad para inhibir a las cefalosporinas es mucho menor. Las combinaciones de uno de estos inhibidores con un antimicrobiano lactámico beta protege al agente terapéutico de la destrucción de muchas lactamasas beta y amplía su espectro. Ahora hay cuatro de estas combinaciones disponibles en Estados Unidos: Amoxicilina/clavulanato, ticarcilina/clavulanato, ampicilina/sulbactam y piperacilina/tazobactam. Las bacterias que producen cefalosporinas inducibles codificadas por cromosomas no son susceptibles a estas combinaciones. Aún está por confirmarse si estas combinaciones ofrecen ventajas terapéuticas o económicas en comparación con los antibióticos estables ante las lactamasas beta.

## **USO CLÍNICO**

Por su baja toxicidad y acción bactericida, los antibióticos lactámicos beta casi siempre son los fármacos de elección para las infecciones por microorganismos susceptibles. También se demostraron tener un gran valor en la prevención de muchas infecciones. Se excretan por vía renal y alcanzan niveles urinarios muy altos. Las penicilinas llegan al líquido

cefalorraquídeo cuando las meninges están inflamadas y son efectivas en el tratamiento de la meningitis, pero no las cefalosporinas de primera y segunda generaciones. En contraste, las de tercera generación penetran mucho mejor y se convirtieron en los agentes de elección para el tratamiento de meningitis no diagnosticada y meningitis causada por la mayoría de microorganismos gram negativos.

#### **2.3.4.2. ANTIMICROBIANOS GLUCOPEPTÍDICOS.**

Este grupo incluye dos agentes: vancomicina y teicoplanina. Estos antimicrobianos inhiben el ensamblaje de la molécula lineal de peptidoglicano mediante la unión directa con los aminoácidos terminales de las cadenas laterales peptídicas. El efecto es el mismo que con los lactámicos beta: impiden la formación de enlaces cruzados de peptidoglicano. Ambos agentes son bactericidas, pero tienen actividad sobre todo contra bacterias gram positivas. Se usa sobre todo en infecciones por gram positivos resistentes a múltiples fármacos, como las ocasionadas por estafilococos resistentes a las penicilinas.

#### **2.3.5. INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA.**

##### **2.3.5.1. AMINOGLUCÓSIDOS.**

Todos los integrantes del grupo de antibacterianos aminoglucósidos tienen un anillo aminociclitol de seis elementos con aminoazúcares unidos. Los fármacos individuales difieren en cuanto a la naturaleza exacta y el

número y tipo de residuos de aminoazúcares. Los aminoglucósidos tienen actividad contra un amplio espectro de bacterias, pero sólo en microorganismos capaces de transportarlos al interior de la célula por un mecanismo que implica fosforilación oxidativa. Por lo tanto, tienen poca o ninguna actividad contra anaerobios estrictos o microorganismos facultativos que metabolizan sólo por fermentación (p. ejemplo: *Streptococcus*). Es muy probable que la actividad de los aminoglucósidos contra los microorganismos facultativos disminuya en forma similar in vivo cuando el potencial de oxidación-reducción es bajo.

“Una vez dentro de las células bacterianas, los aminoglucósidos inhiben la síntesis de proteína mediante la unión con los ribosomas bacterianos, ya sea en forma directa o al afectar a otras proteínas. Esta unión rompe la estabilidad de los ribosomas y bloquea los complejos de iniciación, con lo que impide la elongación de las cadenas peptídicas. Los agentes también producen distorsión del sitio de unión con el mRNA, traducción errónea de los codones y falta de producción de la secuencia correcta de aminoácidos en las proteínas”.<sup>19</sup> El primer aminoglucósido, la estreptomina, se une con la subunidad ribosomal 30S, pero los aminoglucósidos más modernos y activos se unen en múltiples sitios, tanto en la subunidad 30S como en la 50S.

Los ribosomas eucariotas son resistentes a los aminoglucósidos y los antimicrobianos no se transportan en forma activa al interior de las células eucariotas. Estas propiedades explican su toxicidad selectiva y también su falta de efectividad contra las bacterias intracelulares como *Rickettsia* y *Chlamydia*.

---

<sup>19</sup> Sherris. Ob. Cit.. Pág. 220

La gentamicina y la tobramicina son los principales aminoglucósidos; tienen un espectro amplio que incluye estafilococos, *Enterobacteriaceae* y *Pseudomona aeruginosa*. En la actualidad la estreptomina y la amikacina se usan sobre todo combinadas con otros antimicrobianos, para el tratamiento de la tuberculosis y otras enfermedades micobacterianas. La neomicina es el aminoglucósido más tóxico; gracias a que se absorbe muy poco, se usa en preparaciones tópicas y orales para ciertos tipos de operaciones intestinales.

Todos los aminoglucósidos son tóxicos en grados variables para las ramas vestibular y auditiva del octavo nervio craneal y pueden ocasionar pérdida completa e irreversible de la audición y el equilibrio. Asimismo, pueden ser tóxicos para los riñones, por lo que es indispensable vigilar los niveles sanguíneos durante el tratamiento para asegurar las dosis adecuadas atóxicas, sobre todo cuando el daño renal disminuye la excreción del fármaco. Por ejemplo, con niveles sanguíneos de gentamicina menores de 10 µg/ml se evita la toxicidad renal, pero muchas cepas de *Pseudomona aeruginosa* requieren 2 a 4 µg/ml para inhibirse.

El valor clínico de los aminoglucósidos radica en su efecto bactericida rápido, su espectro amplio, el desarrollo lento de resistencia a los agentes más usados y su acción contra cepas de *Pseudomona aeruginosa* resistentes a otros antimicrobianos. Además, causan menos trastornos en la flora normal que la mayoría de los antimicrobianos de amplio espectro, talvez por su falta de actividad contra la flora de predominio anaerobio del intestino y porque sólo se emplean por vía parenteral para las infecciones sistémicas. Los antibióticos lactámicos beta a menudo tienen un efecto sinérgico con los aminoglucósidos, quizá porque su acción sobre la pared celular facilita la penetración del aminoglucósido a la célula bacteriana. Este

efecto es más pronunciado con microorganismos como *Streptococos* y *Enterococos*, que carecen de las vías metabólicas necesarias para transportar los aminoglucósidos a su interior.

### 2.3.5.2. TETRACICLINAS

“A finales de la década de los años cuarenta, y como resultado de la necesidad de nuevos y potentes antibióticos, se desarrollaron las primeras tetraciclinas obtenidas a partir de microorganismos (*Streptomyces*) presentes en muestras de suelos recogidos en diferentes partes del mundo”.<sup>20</sup> “Las tetraciclinas se conforman con cuatro anillos benceno fusionados. Las sustituciones en estos anillos establecen las diferencias en las características farmacológicas de los principales integrantes del grupo: tetraciclina, minociclina y doxiciclina”.<sup>21</sup> Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica por la unión con la subunidad ribosomal 30S en un punto que bloquea la unión del aminoacil-tRNA con el sitio receptor en el complejo mRNA-ribosoma. A diferencia de los aminoglucósidos, su efecto es reversible; son bacteriostáticas y no bactericidas.

Las tetraciclinas son agentes de amplio que abarca a las especies patógenas más frecuentes, incluidos los bacilos y cocos gram positivos y gram negativos, aerobios y anaerobios. Tienen actividad contra los microorganismos con pared deficiente, como *Micoplasma* y *Esferoplastos*, así como contra algunas bacterias intracelulares obligadas, incluidos miembros del género *Rickettsia* y *Chlamydia*. Las diferencias en el espectro de actividad entre los fármacos de este grupo son relativamente menores. La

---

<sup>20</sup> [http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act11198.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act11198.htm) (consultado 24/05/05)

<sup>21</sup> Sherris. Ob. Cit. Pág. 221.

resistencia adquirida a uno de ellos casi siempre confiere resistencia a todos.

Las tetraciclinas se absorben después de la administración oral. Se dividen en agentes que alcanzan niveles sanguíneos durante sólo unas horas y agentes de actividad más prolongada (minociclina y doxiciclina) que pueden administrarse en dosis más espaciadas. Las tetraciclinas sufren quelación en presencia de cationes divalentes, lo que reduce su absorción y actividad. Por lo tanto, no deben tomarse con productos lácteos ni con muchas preparaciones antiácidas. Las tetraciclinas se excretan en la bilis y la orina en forma activa.

Estos antibacterianos tienen una gran afinidad por el hueso y los dientes en desarrollo, a los que otorgan un color amarillento y se evitan en niños de hasta ocho años de edad.

Las complicaciones frecuentes a causa de estos fármacos son las molestias gastrointestinales por la alteración de la flora normal, lo que predispone al paciente a una infección agregada, por microorganismos resistentes a las tetraciclinas, y a candidosis vaginal y bucal (algodoncillo), por la levadura oportunista *Candida albicans*.

### **2.3.5.3. CLORANFENICOL**

El cloranfenicol tiene una estructura anular sencilla de nitrobenzeno que hoy en día se produce en grandes cantidades mediante síntesis química. Influye en la síntesis de proteínas porque se une con la subunidad ribosomal 50S y bloquea la acción de la transferasa de peptidilo, lo que

impide la formación del enlace peptídico esencial para la extensión de la cadena peptídica. Su efecto es reversible en la mayoría de las especies susceptibles; por lo tanto, es un bacteriostático. Tiene poco efecto en los ribosomas eucariotas, lo cual explica su toxicidad selectiva.

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro; como las tetraciclinas, ejerce actividad contra especies aerobias y anaerobias. Se absorbe con facilidad en la parte superior del tubo digestivo y se difunde hacia la mayoría de los compartimientos corporales, incluido el líquido cefalorraquídeo. También penetra con facilidad en las células de los mamíferos y tiene actividad contra los patógenos intracelulares obligados, como *Rickettsia* y *Chlamydia*.

La principal limitación de este antimicrobiano de amplio espectro y bajo costo con características farmacológicas casi ideales es su rara pero grave toxicidad. Uno de cada 50,000 a 200,000 pacientes tratados con este agente, incluso en dosis bajas, presenta una reacción idiosincrática que evoluciona a anemia aplásica, la cual es irreversible y hasta antes del advenimiento del trasplante de la médula ósea solía ser fatal. En dosis altas, el cloranfenicol también produce depresión irreversible de la médula ósea y en los recién nacidos ocasiona disfunción digestiva, circulatoria y respiratoria; esta última se agrava por la incapacidad del hígado inmaduro del lactante para conjugar y excretar el fármaco.

En la actualidad el uso de cloranfenicol se limita al tratamiento de infecciones por *Rickettsia* o *Ehrlichia* en las que no pueden usarse tetraciclinas por hipersensibilidad o embarazo. Su penetración al sistema nervioso central (SNC) y su actividad contra anaerobios aún justifica su empleo en casos de abscesos cerebrales. En algunos países en desarrollo,

el uso del cloranfenicol es más amplio por su costo bajo y eficacia comprobada en enfermedades como fiebre tifoidea y meningitis bacteriana.

#### **2.3.5.4. MACRÓLIDOS**

Los agentes que forman este grupo, eritromicina, acitromicina y claritromicina, difieren en la composición precisa de una estructura anular grande de 14 o 15 elementos. Afectan la síntesis de proteínas en los ribosomas mediante la unión con la subunidad 50S y el bloqueo de la reacción de translocación. Su efecto principal es bacteriostático. Los Macrólidos que se concentran en los fagocitos y otras células, son efectivos contra algunos patógenos intracelulares.

La eritromicina, el primero y aún el más usado de los macrólidos, tiene un espectro de actividad que incluye a la mayoría de las bacterias patógenas gram positivas y algunos microorganismos gram negativos. El espectro gram negativo incluye a *Neisseria*, *Bordetella*, *Campylobacter* y *Legionella*, pero no *Enterobacteriaceae*. La eritromicina también es efectiva contra *Chlamydia* y *Mycoplasma*.

Las bacterias que desarrollaron resistencia a eritromicina casi siempre son resistentes también a los macrólidos nuevos; acitromicina y claritromicina. Estos agentes tienen el mismo espectro que la eritromicina, al que se suman algunos aspectos importantes: acitromicina tiene mayor actividad (menor CIM) contra la mayoría de las bacterias gram negativas; claritromicina es el más activo de los tres macrólidos contra agentes gram positivos y gram negativos y claritromicina también es efectiva contra micobacterias. Además, tanto acitromicina como claritromicina tienen

eficacia demostrada contra *Borrelia burgdorferi*, agente causal de la enfermedad de Lyme, y contra el protozooario *Toxoplasma gondii*.

#### **2.3.5.5. CLINDAMICINA.**

La clindamicina no guarda ninguna relación química con los macrólidos, pero su modo de acción y espectro son similares. Tiene mayor actividad que los macrólidos contra anaerobios gram negativos, incluido el importante grupo *Bacteroides fragilis*. Aunque en muchos casos la clindamicina es un sustituto perfecto para un macrólido, su empleo principal es en situaciones en las que es probable que participen anaerobios.

#### **2.3.5.6. OXAZOLIDINONAS.**

La linezolida es el agente más usado de una nueva clase de antibióticos que actúa mediante la unión con la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos. No se conoce el mecanismo exacto, pero no implica elongación del péptido ni terminación de la transducción. Las oxazolidinonas tienen utilidad clínica en la neumonía y otras infecciones de tejidos blandos, sobre todo las causadas por cepas resistentes de *Estafilococos*, *Neumococos* y *Enterococos*.

#### **2.3.5.7 ESTREPTOGRAMINAS.**

La quinupristina y la dalfopristina se emplean en una combinación fija conocida como quinupristina-dalfopristina en proporción sinérgica, que inhibe

la síntesis proteica mediante la unión con diferentes sitios de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. La quinupristina inhibe la elongación de la cadena peptídica y la dalfopristina interfiere con la transferasa de peptidilo. Su aplicación clínica hasta ahora se limita al tratamiento de los *Enterococos* resistentes a vancomicina.

### **2.3.6. INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS.**

#### **2.3.6.1. QUINOLONAS.**

Las quinolonas tienen un núcleo formado por dos anillos fusionados de seis elementos que cuando se sustituyen con flúor se convierten en fluoroquinolonas, las principales quinolonas para el tratamiento de infecciones bacterianas. Entre las fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina y ofloxacina), la adición de un anillo piperacina y su metilación modifican la actividad y propiedades farmacológicas del compuesto individual. “El objetivo primario de todas las quinolonas es la topoisomerasa del DNA (girasa), enzima encargada de la flexión, formación de la súper hélice y sellado del DNA bacteriano durante la replicación. Las topoisomerasas bacterianas tienen cuatro subunidades, de las cuales una o más se inhiben por la acción de la quinolona”.<sup>22</sup>

La mayor actividad y menor frecuencia de resistencia que se observan con las fluoroquinolonas se atribuyen a su unión con múltiples sitios en la enzima. Esto disminuye de manera considerable la probabilidad de que una

---

<sup>22</sup> Ibidem, Pág. 223.

sola mutación cause resistencia, tal como sucedió con la primera quinolona, el ácido nalidíxico, un agente que sólo tenía un sitio de unión.

Las fluoroquinolonas tienen una intensa actividad bactericida contra un amplio espectro de aerobios y anaerobios facultativos. Sin embargo, los *Streptococos* y *Mycoplasma* solo presentan susceptibilidad marginal y los anaerobios casi siempre son resistentes. Ofloxacin es efectiva contra *Chlamydia*, mientras que ciprofloxacina tiene utilidad particular contra *Pseudomona aeruginosa*. Las fluoroquinolonas tienen, además de un amplio espectro, varias propiedades farmacológicas favorables, como su vía de administración (oral), poca unión con proteínas, buena distribución en todos los compartimientos corporales, penetración de fagocitos y vida media prolongada en el suero que permite la administración una o dos veces al día. La norfloxacina y ciprofloxacina se excretan por vías renal y hepática, lo que produce altas concentraciones en la bilis y orina. La ofloxacin se excreta sobre todo por vía renal.

#### **2.3.6.2. INHIBIDORES DEL FOLATO.**

Los agentes que interfieren con la síntesis bacteriana de ácido fólico tienen toxicidad selectiva porque las células de los mamíferos son incapaces de realizar esta tarea y usan el folato ya formado de las fuentes dietéticas. El ácido fólico deriva del ácido para-aminobenzoico (PABA), glutamato y una unidad pteridina. En su forma reducida, es una coenzima esencial para el transporte de los compuestos de un carbono en la síntesis de las purinas, timidina, algunos aminoácidos y por tanto, aunque de manera indirecta, de los ácidos nucleicos y las proteínas. Los principales inhibidores de la vía del folato son las sulfonamidas, trimetoprim, ácido para-aminosalicílico y sulfonas.

## **SULFONAMIDAS.**

Las sulfonamidas son análogos estructurales del PABA y compiten con él por la enzima (sintetasa de dihidropteroato) que combina el PABA con la pteridina en la etapa inicial de la síntesis del folato. Este bloqueo tiene múltiples efectos en las células bacterianas, de los cuales el más importante es la interrupción de la síntesis de ácidos nucleicos. El efecto es bacteriostático y la adición de PABA al medio que contiene sulfonamida neutraliza su efecto inhibitorio y permite la reanudación del crecimiento.

Cuando se introdujeron, en el decenio de 1940, las sulfonamidas tenían un espectro muy amplio (*Estafilococos*, *Streptococos*, muchas bacterias gramnegativas), pero la resistencia se desarrolló con rapidez y esto limitó su empleo en las infecciones sistémicas. Ahora se utilizan sobre todo en las infecciones urinarias no complicadas ocasionadas por integrantes de la clase *Enterobacteriaceae*, sobre todo *Escherichia coli*. Las sulfonamidas son convenientes en estos casos porque su costo es bajo, se absorben bien después de la administración oral y se excretan en niveles altos por la orina.

## **TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL.**

El trimetoprim actúa en la vía de síntesis del folato, pero en un punto ulterior al de las sulfonamidas. Inhibe en forma competitiva la actividad de la reductasa de dihidrofolato bacteriana, la cual cataliza la conversión de folato en su forma de coenzima reducida activa. Cuando se combina con sulfametoxazol (sulfonamida), trimetoprim causa un bloqueo en dos etapas de la vía del folato, lo que a menudo tiene efectos bacteriostáticos sinérgicos

o bactericidas. Esta calidad se explota en preparaciones terapéuticas que combinan ambos agentes en proporciones fijas diseñadas para obtener la sinergia óptima.

Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX) tiene un espectro mucho más amplio y estable que cualquiera de sus componentes por separado; su espectro abarca a la mayoría de los patógenos frecuentes, gram positivos o gram negativos, cocos o bacilos. Los anaerobios y *Pseudomona aeruginosa* son la excepción. También tiene actividad contra algunos de los agentes poco frecuentes, como *Nocardia*. TMP-SMX se usa con buenos resultados en el tratamiento de infecciones urinarias, otitis media, sinusitis, prostatitis y diarrea infecciosa, y es el agente de elección para la neumonía causada por el hongo *Pneumocystis carinii*.

## **METRONIDAZOL.**

El metronidazol forma parte del nitroimidazol, una familia de compuestos con actividad contra bacterias, hongos y parásitos. Para lograr su acción antibacteriana requiere reducción del grupo nitro en condiciones anaerobias, lo cual explica la limitación de su actividad sobre las bacterias que prefieren condiciones de crecimiento anaerobias o por lo menos microaerobias. Los productos de la reducción actúan sobre la célula en múltiples puntos; el más letal de esos efectos es la inducción de roturas en las cadenas del ácido desoxirribonucleico.

Metronidazol tiene actividad contra una gran variedad de anaerobios, incluido *Bacteroides fragilis*. En la clínica es útil para cualquier infección en la que participen agentes anaerobios. Como estas infecciones casi siempre

son polimicrobianas, por lo general se agrega un segundo antibiótico (por ejemplo: un lactámico beta) para cubrir también las bacterias aerobias y facultativas.

### **RIFAMPICINA.**

“La rifampicina se une con la subunidad beta de la polimerasa de RNA dependiente de DNA, lo que impide el inicio de la síntesis de RNA. Es efectiva contra la mayoría de las bacterias gram positivas y algunas gram negativas, incluidas *Neisseria* y *Haemophilus*, pero no contra los integrantes de la clase *Enterobacteriaceae*. Su propiedad con mayor utilidad clínica es la actividad contra las micobacterias, entre ellas *Mycobacterium tuberculosis* y otras especies que infectan con mayor frecuencia a los humanos”.<sup>23</sup>

### **2.3.7. ANTIMICROBIANOS QUE ACTÚAN SOBRE LAS MEMBRANAS EXTERNA Y CITOPLÁSMICA**

Los antimicrobianos polipeptídicos polimixina B y colistina tienen un efecto similar a los detergentes catiónicos. Se unen con las membranas celulares de las bacterias gram negativas susceptibles y alteran su permeabilidad, lo que causa pérdida de los componentes citoplásmicos esenciales y muerte bacteriana. Estos agentes reaccionan en menor medida con las membranas celulares del huésped, lo que causa toxicidad renal y neurológica. Su espectro incluye microorganismos gram negativos; son efectivos contra *Pseudomona aeruginosa* y otros bacilos gram negativos.

---

<sup>23</sup> Ibidem. Pág. 225.

Aunque estos antimicrobianos se usaron en el tratamiento sistémico, ahora su empleo se limita a la aplicación tópica.

## **OTROS AGENTES**

Son varios los antimicrobianos efectivos que se usan casi de manera exclusiva para un solo agente infeccioso.

### **2.4. RESISTENCIA BACTERIANA.**

“La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico”.<sup>24</sup>

Desde la introducción de los antibióticos la mortalidad por infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* disminuyó drásticamente, pero muy pronto se puso de manifiesto la resistencia de algunas cepas a la penicilina. La resistencia adquirida ocurrió de forma paralela para los *Staphylococcus aureus*. El mecanismo de resistencia es la elaboración de una enzima llamada beta lactamasa que es capaz de romper el anillo beta lactámico a través de un proceso de hidrólisis; esta enzima conocida inicialmente como penicilinasa es codificada por un transposón transportado por un plásmido. Contrario a lo esperado, la introducción de penicilinas semisintéticas no fue la solución al problema de la resistencia bacteriana; pues en corto tiempo los

---

<sup>24</sup> <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF> (consultado el 12/06/05)

gérmenes también mostraron resistencia a estos fármacos, fenómeno conocido como resistencia intrínseca a la meticilina.

Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) deben considerarse resistentes a todos los betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapemen y combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas) .

*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, conocidos en inglés como MRSA, han desarrollado la resistencia de tres formas que bien pueden relacionarse entre sí: producción de  $\beta$ -lactamasas, por fenómenos de tolerancia, resistencia por proteínas fijadoras de penicilina (PBP) modificadas o supernumerarias.

Para considerar una bacteria susceptible o resistente a cualquier antimicrobiano es necesario la valoración de la actividad in vitro y de sus características farmacológicas, así como la evaluación clínica. El éxito sostenido del tratamiento del antibiótico depende de que este aventaje la capacidad de los microorganismos para crear resistencia. Cualquier agente probado para uso clínico tuvo que haberse demostrado invitro su capacidad para inhibir el crecimiento de algunos grupos blancos de bacterias en concentraciones que pueden alcanzarse con riesgo de toxicidad aceptable; una vez que se establecen estos factores, la selección rutinaria del tratamiento puede basarse en las características conducidas o esperadas de los microorganismos y las características farmacológicas de los antimicrobianos, con respecto a los microorganismos, el uso del término susceptible (sensible) implica que su concentración inhibitoria mínima no se rebasa con unos niveles alcanzables en la sangre y otros líquidos corporales con las dosis recomendadas. Las cepas limítrofes se llaman intermedias,

moderadamente sensibles o moderadamente resistente, según los valores exactos y las conversiones del sistema en que se informa. Para el tratamiento de enfermedades por estos microorganismos pueden usarse a agentes antimicrobianos, pero en dosis mayores para llegar a compartimientos corporales en los que se concentran los patógenos.

Las características farmacológicas importantes de los antimicrobianos incluyen la dosis y vías de administración. Otras características son la capacidad de absorción, su excreción y concentración; si pueden entrar en las células, si se metabolizan y con qué rapidez, y la duración de la concentración en la sangre y tejidos.

#### **2.4.1. ORIGEN DE LAS CEPAS RESISTENTES.**

Es posible que las cepas resistentes existan desde antes de la introducción de un antimicrobiano, pero con una frecuencia tan baja que es imposible detectarlas. La naturaleza aparentemente perfecta de los antimicrobianos al principio considerado como fármacos maravillosos. Se ha erosionado de manera constante por la aparición de cepas resistentes a su actividad, esta resistencia puede ser inherente al microorganismo o aparecer por mutación o adquisición de nuevos genes. Los mecanismos por los cuales las bacterias desarrollan resistencia y la manera en que estas se diseminan son de gran interés para el uso continuo de los agentes actuales y para el desarrollo de antimicrobianos nuevos.

Para el microorganismo, la resistencia antimicrobiana tiene valor de supervivencia y su expresión en situaciones médicas requieren la conservación de la virulencia a pesar del cambio que media la resistencia,

no existen conexiones directas entre la resistencia y virulencia, las bacterias resistentes pueden tener más oportunidades para producir una enfermedad, pero esta es idéntica a la originada por la contraparte bacteriana susceptible al fármaco.

## **2.4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA.**

“Los principales mecanismos de resistencia bacteriana son: acumulación de barreras para un antimicrobiano por impermeabilidad o salida activa; alteraciones de un blanco antimicrobiano que lo vuelven susceptible, y desactivación de un antimicrobiano por efecto de una enzima que produce el microorganismo”.<sup>25</sup>

### **2.4.2.1. BARRERAS DE ACUMULACIÓN.**

Un antimicrobiano efectivo debe entrar a la célula bacteriana y alcanzar concentraciones suficientes para actuar sobre su objetivo. Los canales de una proteína de la membrana externa permiten el ingreso de moléculas según su tamaño, carga, grado de hidrofobia o configuración molecular general. Esta es una de las principales razones de resistencia inherente a los antimicrobianos, pero dichas características de transporte pueden cambiar, incluso en especie susceptibles típicas, a causa de mutaciones en las proteínas por purinas, algunos antimicrobianos deben transportarse en forma activa en el interior de la célula, otros antimicrobianos se transportan de forma activa hacia fuera de la célula.

---

<sup>25</sup> Sherris. Ob. Cit. Pág. 238.

#### **2.4.2.2. BLANCO ALTERADO.**

Una vez alterado, dentro de la célula los antimicrobianos actúan mediante la unión y desactivación de su blanco, que casi siempre es una enzima crucial. Si el blanco se modifica de tal manera que su afinidad por el antimicrobiano disminuye, el efecto inhibitor se reduce de manera proporcional. La situación de un solo aminoácido en cierto sitio de una proteína puede cambiar su unión con el antimicrobiano, sin afectar su función en la célula bacteriana.

Si la modificación de un solo sitio del blanco hace que el microorganismo no sea susceptible al fármaco, la mutación a la resistencia puede ocurrir en un solo paso, incluso durante el tratamiento. Esto ocurrió con los primeros aminoglucósidos (estreptomina), que se unían con un solo sitio de los ribosomas, y con la primera quinolona (ácido nalidíxico) que se adhería sólo con una de las cuatro sub unidades de la topoisomerasa. En la actualidad los nuevos agentes de cada una de esas clases se unen en múltiples sitios del blanco, lo que hace improbable la mutación de la resistencia.

En especies gram positivas y gram negativas, los cambios en una o más de estas proteínas ocasionan una menor susceptibilidad a múltiples lactámicos beta. Al principio, estas alteraciones se detectaron como cambios en la migración electroforética de una o más proteínas de unión con penicilina marcada, estos cambios se han rastrear hasta mutaciones puntiformes, situaciones de secuencia de aminoácidos e incluso síntesis de una nueva enzima. Como la unión alterada no es absoluta, los descensos en la susceptibilidad son crecientes y a menudo pequeños. Las alteraciones en la proteína de unión con penicilina son la principal razón del surgimiento

de resistencia de un antimicrobiano. La alteración del blanco no requiere una mutación y que puede ocurrir por la acción de una nueva enzima por la bacteria.

#### **2.4.2.3. DESACTIVACIÓN ENZIMÁTICA.**

Es el mecanismo de resistencia más potente y sólido. Literalmente, cientos de enzimas distintas producidas por la bacteria resistente pueden desactivar al antimicrobiano dentro de la célula, en el espacio periplásmico o fuera de la célula. Puede actuar sobre la molécula del antimicrobiano por interrupción de su estructura o al catalizar una reacción que modifique su estructura química.

Lactamasas beta, se refiere a cualquiera de los cientos de enzimas bacterianas capaces de abrir el anillo lactámico beta y desactivar a varios integrantes del grupo lactámico beta. Cada lactamasa beta es una enzima distinta con características físicas y perfil de sustrato propios. La bacteria que produce lactamasa, casi siempre tienen un alto nivel de resistencia, incluso los protectores débiles de lactamasa beta se consideran resistente porque el resultado de las pruebas de susceptibilidad dependen mucho de la cantidad de bacterias que haya.

#### **2.4.2.4. ENZIMAS MODIFICADORAS.**

La causa más frecuente de resistencia adquirida a los aminoglucósidos es la producción de una o varias enzimas de las más de 50 que acetilan, adenilan o fosforilan los grupos hidroxilos o amino del

aminoácido, las modificaciones o corren en el citoplasma o en estrecha relación con la membrana citoplasmática. La resistencia que confieren estas acciones casi siempre es alta; el aminoglucósido modificado ya no se une con el ribosoma. Al igual que las lactamasa beta, las enzimas modificadoras de aminoglucósidos representan un grupo grande y diverso de proteínas bacterianas, cada una con propiedades y perfil de sustrato específico, la mayoría de las enzimas actúan mediante la modificación química de la molécula del antimicrobiano en forma similar a las enzimas modificadoras de aminoglucósidos.

### **2.4.3. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA.**

#### **2.4.3.1. RESISTENCIA INTRÍNSECA.**

Para cualquier antimicrobiano, hay especies bacterianas típicas de su espectro, la resistencia a este grupo se conoce como intrínseca o cromosómica para reflejar su naturaleza inherente. Las especies resistentes tienen rasgos que los hacen no susceptibles, como barreras de permeabilidad, falta de susceptibilidad de la pared celular o blancos ribosomales, algunas especies producen concentraciones bajas de enzimas desactivadoras. Es posible que los genes cromosómicos que codifican estas lactamasas beta estén bajo control represor y se induzca por ciertos antimicrobianos lactámicos beta. Esto conduce al aumento en la producción de lactamasa beta, lo cual casi siempre produce la resistencia no sólo al lactámico inductor, sino también a otros a los que el microorganismo hubiera podido ser susceptible. Muchas de las lactamasas beta de espectro extendido actúan de esta manera.

#### **2.4.3.2. RESISTENCIA ADQUIRIDA.**

Cuando una especie que al principio era susceptible desarrolla resistencia adquirida, puede ser el resultado de una mutación o provenir de otro microorganismo mediante alguno de los mecanismos de intercambio genético. De éstos, la conjugación y la transposición son los más importantes.

#### **RESISTENCIA POR MUTACIÓN.**

La resistencia adquirida puede ocurrir cuando se produce una mutación crucial en el blanco del antimicrobiano o en las proteínas relacionadas con el acceso al blanco. Las mutaciones en las proteínas reguladoras también pueden ocasionar resistencia. Las mutaciones ocurren con una frecuencia baja y sólo se expresan si no se relacionan con otros efectos desventajosos para la célula bacteriana. La resistencia por mutación puede surgir en un solo paso o evolucionar por muchas mutaciones antes de alcanzar importancia clínica.

#### **PLÁSMIDO Y CONJUGACIÓN.**

La transferencia de plásmidos por conjugación fué el primer mecanismo descubierto para adquirir nuevos genes de resistencia y aun es el más importante. Los genes de resistencia en los plásmidos, pueden determinar la resistencia a uno o varios antimicrobianos que actúan por distintos mecanismos. Después de la conjugación, los genes de resistencia pueden permanecer en un plásmido que recupera su forma circular. La

resistencia no es la única función de los plásmidos. Una sola célula puede contener más de un plásmido distinto y múltiples copias de uno. Aunque la mayoría de los mecanismos de resistencia se relacionan con los plásmidos de una u otra especie, de ninguna manera la distribución de éstos entre las bacterias patógenas es uniforme. Los sistemas de compatibilidad que mantienen los plásmidos de una generación de células bacterianas a la siguiente son complejos.

Es probable que los plásmidos se transfieran a otra cepa si son conjugadores, o sea, si el plásmido de resistencia también contienen genes que medien la conjugación. Algunos plásmidos pueden transferirse sólo a cepas muy relacionadas; otros pueden transferirse a un amplio espectro de especies del mismo o de otros géneros. Un plásmido conjugador con un espectro amplio de huéspedes tiene suficiente capacidad para diseminar cualquier gen de resistencia.

## **TRANSPOSONES Y TRANSPOSICIÓN**

Los transposones que contiene genes de resistencia pueden moverse de un plásmido a otro o entre un plásmido y un cromosoma. Muchos de los genes de resistencia transportados en los plásmidos son inserciones de transposón que pueden llevarse junto con el resto del genoma del plásmido a otra cepa a través de la conjugación. Una vez ahí, el transposón es libre de permanecer en el plásmido original, insertarse en un nuevo plásmido o en el cromosoma.

## **2.5. ANTIBIOGRAMA**

“Es un método bien establecido que consiste en el estudio de la sensibilidad o resistencia de determinado microorganismo (o grupo de ellos) a varios antibióticos. Se puede utilizar para tratar un patógeno, añadir a alimentos, en definitiva para saber como se comporta un germen frente a determinado antibiótico”.<sup>26</sup>

### **2.5.1. DIFUSIÓN EN DISCO.**

“En la actualidad, la prueba de difusión en agar más empleada es el método de Kirby-Bauer, que fué desarrollado a principios de la década de 1960 por William Kirby , A. W. Bauer y sus colaboradores en la Washington Medical School, siendo recomendado por la Food and drug administration (FDA) y el National Committee for Clinical Laboratory Standar (NCCLS)”.<sup>27</sup>

### **2.5.2. UTILIDAD.**

“Determinar in vitro a que antibiótico es susceptible o resistente una determinada cepa bacteriana aislada del paciente. Este método permite al médico escoger el antibiótico más adecuado con base científica proporcionada por el laboratorio y evita dar tratamiento inútiles”.<sup>28</sup>

El antibiograma está indicado cuando se aísla una bacteria responsable de un proceso infeccioso y no puede predecirse su sensibilidad,

---

<sup>26</sup> <http://www.rincondelvago.com/antibiograma.html> (Consultada el 19/05/05)

<sup>27</sup> <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap11.htm#A> (Consultada el 20/05/05)

<sup>28</sup> Torres M.F. Manual Práctico de Bacteriología Médica, 2ª Edición, Pág. 177.

especialmente si se sabe que este tipo de bacteria puede presentar resistencia a los antimicrobianos más habituales. Estas pruebas de sensibilidad también son útiles en estudios epidemiológicos ya que el resultado del antibiograma puede ser considerado como el primer marcador epidemiológico de que se dispone. El método de disco-placa es fácil de realizar, rápido y barato. Es una metodología aplicable a una amplia variedad de bacterias, fundamentalmente bacterias aerobias no exigentes de crecimiento rápido.

### **2.5.3. PRINCIPIO DEL MÉTODO.**

“Utiliza una cantidad constante de antimicrobianos en discos de papel, aplicado sobre la superficie del agar en el cual se ha cultivado el microorganismo en cuestión. Se formara así por difusión un gradiente de concentración del antimicrobiano y la susceptibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de lo zona de inhibición del crecimiento alrededor del disco de papel”.<sup>29</sup>

### **2.5.4. ANTIMICROBIANOS SELECCIONADOS.**

Es evidente la imposibilidad de ensayar un gran número de antimicrobianos frente a un microorganismo determinado. La selección final de qué antibióticos deben ser estudiados dependerá del Laboratorio de Microbiología en sintonía con las decisiones del Comité de Infecciones de cada hospital.

---

<sup>29</sup> Monterrosa Mabel. Diagnóstico Bacteriológico, Pág. 13.

### 2.5.5. CONTROL DE CALIDAD.

Es necesario emplear cepas control para supervisar la exactitud y fiabilidad de la metodología. Las cepas de control se mantienen en el congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ , con el fin de preservar su viabilidad y minimizar posibles modificaciones. Para resembrarlas debe utilizarse un escobillón o asa con el que se rascará la superficie del material congelado (no hace falta descongelar) y sembrará en una placa de agar sangre. Incubar a  $35^{\circ}\text{C}$ , de 18 a 20 horas, realizar una nueva resiembra que ya podrá emplearse para el ensayo. Debe realizarse controles en cada nuevo lote de medio de cultivo y cada nuevo lote de antibióticos. “La cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 sirve para detectar que el Mueller-Hinton contiene los niveles correctos de inhibidores al ensayar el trimetoprim y/o sulfametoxazol. Los resultados normalmente quedan registrados en una libreta de control de calidad”.<sup>30</sup>

### 2.5.6. CONTROL DEL INÓCULO.

“Se utiliza un tubo de MacFarland 0.5. Para prepararlo se emplea 0.5 ml de 0.048 M de  $\text{BaCl}_2$  (1,175%  $\text{BaCl}_2+2\text{H}_2\text{O}$ ) en 99,5 ml de 0.18 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1% v/v) con agitación constante. La absorción a 625 nm ha de estar entre 0.08 y 0.10 (comprobar cada mes). Alícuotas de 4 a 6 ml se distribuyen en tubos con tapón de rosca y se guardan en la oscuridad a temperatura ambiente”.<sup>31</sup>

---

<sup>30</sup> <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap11.htm#A> (consultada el 20/05/05)

<sup>31</sup> Idem.

### **2.5.7. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.**

La interpretación significa comparar los diámetros del halo de inhibición con las CMI, y estableciendo las correspondientes rectas de regresión, se han fijado unos criterios para clasificar las cepas estudiadas. De esta forma se han fijado tres categorías: sensible (S), intermedia (I) y resistentes (R). Anteriormente se añadía la categoría moderadamente sensible (MS) que tiende a eliminarse y los resultados correspondientes a la misma se han situado en la categoría de intermedia. Las interpretaciones seguirán las normas establecidas por el NCCLS pero, por regla general, un diámetro de inhibición de 30 a 35 mm es indicativo de una cepa altamente sensible, mientras que diámetros de zona de inhibición inferiores a 15 mm son los que presentan las cepas resistentes.

El término sensible indica que la infección ocasionada por la cepa para la que se ha determinado la CMI o su correspondiente halo de inhibición puede tratarse de forma adecuada empleando las dosis habituales de antimicrobiano, en función del tipo de infección y de la especie considerada.

El término intermedio indica que el halo de inhibición traducido en valores de CMI se aproxima a las concentraciones de antimicrobiano alcanzables en sangre o tejidos y que puede esperarse eficacia clínica en aquellas localizaciones en las que se alcanzan altas cocentraciones de antimicrobiano o cuando se emplean dosis más elevadas de lo habitual. El NCCLS también incluye en esta categoría aquellos casos de antimicrobianos con márgenes de toxicidad estrechos en los que pequeños errores técnicos podrían suponer cambios de interpretación en la categoría clínica.

Finalmente, el término resistente se refiere a aquellos microorganismos que no se inhiben por las concentraciones habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del correspondiente antimicrobiano, o a aquellos microorganismos en los que existen mecanismos de resistencias específicos para el agente estudiado en los que no ha habido una adecuada respuesta clínica cuando se ha usado como tratamiento el correspondiente antimicrobiano.

#### **2.5.8. REPRODUCIBILIDAD.**

“El medio de Mueller-Hinton, regulado en su concentración de iones divalentes, presenta una buena reproducibilidad entre fabricantes. La reproducibilidad está condicionada a la correcta estandarización de la metodología y a la utilización de controles de calidad”.<sup>32</sup>

---

<sup>32</sup> <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap11.htm#A> (consultada 24/05/05)

## 2.6. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

**Absceso:** Cavidad que contiene pus y está rodeada de tejido inflamado formado como consecuencia de la supuración en una infección localizada (característicamente una infección estafilocócica). La curación del absceso se produce cuando éste se drena o es abierto quirúrgicamente.

**Aerobio:** Microorganismo que vive y crece en presencia de oxígeno libre. Los aerobios se dividen en aerobios facultativos y aerobios obligados.

**Anaerobio facultativo:** Microorganismo capaz de crecer en condiciones aerobias pero que se desarrollan más rápidamente en ambiente anaerobio.

**Anaerobio:** Microorganismo que crecen y viven en ausencia completa o casi completa de oxígeno se hallan ampliamente difundidos en la naturaleza y en el cuerpo humano. Pueden ser anaerobios facultativos y anaerobios obligados.

**Antibacteriano:** Relativo a una sustancia que destruye las bacterias o inhibe su crecimiento o reproducción.

**Antibiótico:** Sustancia antimicrobiana obtenida de un microorganismo o producida sistemáticamente, que se utiliza en el tratamiento de las infecciones.

**Antígeno:** Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la formación de un anticuerpo con el que reacciona específicamente.

**Bacteria:** Cualquier microorganismo unicelular de la clase esquizomicetos el género presenta variables morfológicas, y sus componentes pueden ser esféricos (cocos), alargados (bacilos), espirales (espiroquetas) o en forma de coma (vibrio). La naturaleza, gravedad y desarrollo de cualquier infección provocada por una bacteria son característicos de cada especie.

**Bactericida:** Que destruye o lisa las bacterias.

**Bacteriófago:** Virus que provoca la lisis de la bacteria huésped, incluida las algas verde azuladas.

**Bacteriostático:** Que tiende a restringir el desarrollo o reproducción de una bacteria.

**Cápsula:** Cubierta membranosa que recubre ciertos microorganismos.

**Enzima:** Proteína producida por las células vivas que catalizan las reacciones químicas en la materia orgánica. La mayoría son producidas en cantidades mínimas que catalizan las reacciones que tienen lugar en el interior de las células.

**Esfingomielina:** Perteneciente a un grupo de esfingolípidos que contienen fósforo. Se encuentra principalmente en el tejido del sistema nervioso.

**Espora:** Unidad reproductora de algunos géneros de hongos o protozoos. Forma que asumen algunas bacterias y que es resistente al calor, a la desecación y a los productos químicos.

**Etiología:** Estudio de todos los factores que pueden intervenir en el desarrollo de una enfermedad, incluyendo la susceptibilidad del paciente, la naturaleza del agente patológico y la forma en que este invade el organismo afectado.

**Fagocitosis:** Proceso por el cual determinadas células engullen y desechan microorganismos y detritos celulares.

**Fenotipo:** Conjunto de características observables de un microorganismo o grupo, incluidos los rasgos anatómicos, fisiológicos, bioquímico y de comportamiento que son determinados por la interacción de la base genética y los factores ambientales.

**Fibrina:** Proteína filamentosa insoluble que proporciona su carácter semisólido al coágulo sanguíneo y está producida por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno en el proceso de la coagulación.

**Fibrinógeno:** Proteína plasmática esencial para la coagulación de la sangre, que es convertida en fibrina por la trombina en presencia de iones calcio.

**Flagelos:** Proyecciones en forma de pelo que se extienden desde ciertos microorganismos unicelulares ayudándolos en su movimiento.

**Furúnculo:** Infección cutánea estafilocócica, de carácter localizado y supurativo, que se origina en una glándula o folículo piloso y se caracteriza por dolor, enrojecimiento e hinchazón.

**Herida:** Lesión física caracterizada por un desgarramiento de la piel y que, por lo general, es un resultado de un accidente o traumatismo más que de

una enfermedad, como por ejemplo las heridas por arma de fuego o las heridas punzantes.

**Hidrólisis:** Transformación química o destrucción de un compuesto mediante la acción del agua.

**Hipotensión:** Estado anormal en que la tensión arterial no es adecuada para la perfusión y oxigenación convenientes de los tejidos.

**Huésped:** Organismo que alberga y nutre a otros, generalmente un parásito.

**Infección:** Invasión del organismo por microorganismos patógenos que se reproducen y multiplican, causando un estado morbooso por lesión celular local, secreción de una toxina o al provocar una reacción antígeno-anticuerpo en el huésped.

**Inflamación:** Respuesta defensiva del organismo frente a un agente irritante o infeccioso, puede ser aguda o crónica.

**Inóculo:** Sustancia introducida en el organismo al objeto de inducir o aumentar una respuesta inmunitaria específica.

**Interleucina:** Proteína con numerosas funciones en el sistema inmunitario. Hay cuatro tipos diferentes. IL-1, IL -2 , IL-3, IL-4.

**Macrófago:** Célula fagocítica del sistema retículo endotelial como las células de kupffer del hígado, los esplenocitos del bazo y los histiocitos del tejido conjuntivo laxo.

**Metabolismo:** Conjunto de procesos químicos que tienen lugar en los órganos vivos y conducen al crecimiento, la generación de la energía, la eliminación de los desechos y otras funciones fisiológicas, como las relacionadas con la distribución de nutrientes por la sangre después de la digestión.

**Microorganismo:** Cualquier microorganismo diminuto, habitualmente microscópico, capaz de realizar los procesos vitales, puede ser patógeno.

**Molécula:** Unidad más pequeña de un compuesto que conserva las propiedades fisicoquímicas del mismo. Las moléculas se componen de dos o más átomos químicamente combinados.

**Mutación:** Alteración del material genético ocurrida de forma espontánea o por inducción que modifica la expresión original del gen.

**Necrosis:** Muerte de una porción de tejido consecutiva a enfermedad o lesión. En la necrosis por coagulación se forman trombos que bloquean el flujo sanguíneo, produciendo la necrosis en los tejidos dístales al trombo.

**Opsonización:** Proceso por el cual las opsoninas confieren a las bacterias mayor susceptibilidad a la fagocitosis por los leucocitos.

**Patógeno:** Cualquier microorganismo capaz de producir una enfermedad.

**Penicilinasas:** Enzima elaborada por determinadas bacterias, incluidas varias cepas de estafilococos. Inactivan la penicilina y por lo tanto crean resistencia a la misma.

**Prevención:** Cualquier acto dirigido a prevenir la enfermedad y promover la salud, cuyo objetivo es evitar la necesidad de atención primaria, secundaria o terciaria.

**Quimiotaxis:** Respuesta que supone un movimiento positivo, hacia un estímulo químico, o negativo alejándose del mismo.

**Sensibilidad:** Susceptibilidad a una sustancia, como un fármaco o un antígeno.

**Tinción:** Disolución de una sustancia en un líquido, dar a una cosa un color distinto del que tenía.

**Toxina:** Sustancia de origen microbiano que daña o mata las células del organismo huésped.

**Virulencia:** Capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad.

# **CAPÍTULO III**

## **SISTEMA DE HIPÓTESIS**

### **3. SISTEMA DE HIPÓTESIS.**

#### **3.1. HIPÓTESIS GENERAL.**

H<sub>1</sub>: Existe más del 80% de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, en muestras de secreción de heridas y absceso en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, en el Hospital Nacional San Juan de Dios, de la ciudad de San Miguel.

#### **3.2. HIPÓTESIS NULA.**

H<sub>0</sub>: No existe más del 80% de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, en muestras de secreción de heridas y absceso en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, en el Hospital Nacional San Juan de Dios, de la ciudad de San Miguel.

### 3.3. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.

- H<sub>1</sub>: *Staphylococcus aureus* posee mayor resistencia a eritromicina en relación a la penicilina.
- H<sub>2</sub>: *Staphylococcus aureus* aislado de muestra de pacientes mayor de 40 años presenta resistencia a más de tres antibióticos.
- H<sub>3</sub>: La monitorización de la técnica de sensibilidad antimicrobiana es la base para obtener resultados confiables de resistencia antibacteriana.

### 3.4. HIPÓTESIS NULAS.

- H<sub>01</sub>: *Staphylococcus aureus* no posee mayor resistencia a eritromicina en relación a la penicilina.
- H<sub>02</sub>: *Staphylococcus aureus* aislado de muestra de pacientes mayor de 40 años no presenta resistencia a más de tres antibióticos.
- H<sub>03</sub>: La monitorización de la técnica de sensibilidad antimicrobiana no es la base para obtener resultados confiables de resistencia antibacteriana.

### 3.5. DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.

**VARIABLES:** Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*.



**Definición Conceptual:** Resistencia antimicrobiana es la capacidad que tienen las bacterias para inhibir el efecto terapéutico de un determinado antibiótico.

*Staphylococcus aureus*  
Son células esféricas, gram positivas distribuidas en forma de racimos de uvas.



**Definición operacional:** Por medio del antibiograma se podrá clasificar el tipo de resistencia que presenta la bacteria a los antimicrobianos.

Muestras de secreción de heridas y abscesos.



**Herida:** Lesión física caracterizada por un desgarramiento de la piel.

**Abscesos:** Cavidad que contiene pus y está rodeada de tejido inflamado formado como consecuencia de la supuración en una infección localizada.



Por medio de un hisopo o jeringa estéril se toma la muestra de secreción para cultivarlas en medios de cultivo adecuados y dar a conocer así su análisis e interpretación de resultado.

# **CAPÍTULO IV**

## **DISEÑO METODOLÓGICO.**

## 4. DISEÑO METODOLÓGICO.

### 4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

La investigación se caracterizó por ser un estudio analítico, de campo, transversal y prospectivo.

- **ANALÍTICO:** Porque permitió observar el fenómeno y así estudiar, separar y analizar los elementos básicos que competen al problema de investigación cumpliendo así con los objetivos planteados.
- **DE CAMPO:** Porque se trabajó en el lugar en que estaba sucediendo el fenómeno ( servicio de Medicina hombre y Medicina mujer del Hospital Nacional San Juan de Dios) obteniendo información de las fuentes primarias. Por otra parte las pruebas del laboratorio determinaron la resistencia bacteriana y ayudaron a rechazar o aceptar las hipótesis planteadas.
- **TRANSVERSAL:** Porque la investigación se realizó en un período determinado en donde se abordó el fenómeno desde la identificación de factores condicionantes para la asociación de las variables y no a partir de su desarrollo. Además, porque se hizo un corte en el tiempo sin darle seguimiento a ninguno de los casos que formaron parte de la población base.
- **PROSPECTIVO:** Porque a medida que se realizó la fase de ejecución se recopiló la información necesaria para el estudio.

## **4.2. UNIVERSO POBLACIONAL.**

El universo está compuesto por todas las muestras de heridas y abscesos de los pacientes ingresados de los servicios de Medicina hombre y Medicina mujer del Hospital Nacional “San Juan de Dios” de San Miguel.

## **4.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.**

### **4.3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

Calificaron para el estudio todos aquellos pacientes con abscesos o heridas ingresados en los servicios de Medicina hombre y Medicina mujer ingresados en el Hospital Nacional “San Juan de Dios” a los cuales se les aisló *Staphylococcus aureus* y que se encuentran en la edad de 20 a 70 años.

### **4.3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

Todo paciente que no este entre las edades de 20 a 70 años y que no se encuentren en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, además de pacientes con reingreso en los meses de ejecución y que no se les aisle *Staphylococcus aureus*.

#### **4.4. TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN.**

En esta investigación se utilizó la documental bibliográfica y de información electrónica.

- **DOCUMENTAL BIBLIOGRÁFICA:** Con éste se generó un mayor conocimiento del estudio obteniendo información bibliográfica necesaria de libros, diccionarios, enciclopedias entre otros.
- **DOCUMENTAL DE INFORMACIÓN ELECTRÓNICA:** Con ésta se complementaron las bases teóricas fundamentadas en información actualizada y relevante. Se obtuvo información de páginas Web y correos electrónicos.

#### **4.5. TÉCNICAS DE TRABAJO DE CAMPO.**

La técnica de trabajo de campo que se utilizó fue la observación, mediante la cual se hizo un registro visual real y que consignó los acontecimientos de acuerdo al marco uniforme de la investigación.

#### **4.6. TÉCNICAS DE LABORATORIO.**

Las técnicas utilizadas en esta investigación sirvieron para facilitar el análisis real de los objetivos y así poder dar validez a las hipótesis planteadas, entre estas se mencionan:

**TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO** Esta ayudó para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* (agar sangre) y para la susceptibilidad (Mueller –Hinton) (Ver Anexos No 8 y No 9)

**TÉCNICAS DE TOMA DE MUESTRA** Se utilizó para tomar la muestra de heridas o abscesos (Ver Anexo No 10 y No 11)

### **TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN PRIMARIA**

- **Prueba de la Catalasa** Para identificar si la bacteria en estudio es *Staphylococcus* ó *Streptococcus* (ver Anexo No 13).
- **Prueba de la coagulasa** Para la identificación final si es o no *Staphylococcus aureus* (Ver Anexo No 14).

**TÉCNICAS DE DIFUSIÓN EN AGAR** Esta fué utilizada para la clasificación de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* (ver anexos No 16, 17 y 18).

### **4.7 INSTRUMENTOS.**

Entre los instrumentos que se utilizaron se encuentran las fichas bibliográficas, de información electrónica y el diario de campo.

Este último fue útil para el control estandarizado y la monitorización de la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* que fué la referencia para la implementación de la información (Ver Anexo No 22).

#### **4.8. EQUIPO, MATERIAL Y REACTIVOS.**

Son todos aquellos que se utilizaron y facilitaron la realización de las técnicas del tratamiento.

##### **EQUIPO:**

- Microscopio
- Estufa
- Olla de presión
- Refrigeradora
- Balanza granataria

##### **MATERIAL.**

- Guantes
- Láminas portaobjetos
- Asa bacteriológica
- Gradillas
- Mechero bunsen
- Descarte para láminas
- Lápiz graso
- Libro de anotaciones bacteriológicas
- Tubos estériles para recolección de muestra
- Hisopos estériles
- Cinta testigo
- Pipetas pasteur
- Cajas de petri
- Fósforos

- Erlenmeyer
- Pie de Rey
- Campana
- Candela
- Desinfectantes
- Jarra gas pack

### **REACTIVOS**

- Set para coloración de Gram (Cristal violeta, Lugol, Alcohol acetona, Safranina)
- Reactivo para la prueba de la catalasa (peróxido de hidrógeno)
- Agua destilada
- Escala de MacFarland 0.5
- Alcohol
- Lejía

### **MEDIOS DE CULTIVOS**

- Agar sangre de carnero al 5%
- Medio de transporte AMIES
- Agar Mueller Hinton

#### 4.9. PROCEDIMIENTO.

La investigación se desarrolló en un periodo de siete meses, que comprendió la etapa de planificación hasta la presentación del informe final.

La primera etapa comprendió la planificación de la investigación (Ver anexo No 1), elaboración del perfil de investigación y protocolo de la investigación cada una de estas con su defensa.

La ejecución de la investigación que comprendió la segunda etapa, se llevó a cabo de julio a septiembre de 2005 contando con la autorización y aprobación de las autoridades competentes tanto del Hospital Nacional "San Juan de Dios" como del laboratorio clínico de este nosocomio en especial de la jefe de la sección de Bacteriología, se realizó un esquema de rotación del grupo para el procesamiento de muestra (ver anexo No 2)

El procedimiento a seguir con cada paciente fue el siguiente: Se llevó un diario de campo (Ver Anexo No 22 ), se tomó la muestra de secreción heridas o absceso) por medio de un hisopado o aspirado (Ver anexo No 10 y No 11). Las muestras tomadas en los servicios de medicina hombre y medicina mujer fueron procesadas en el laboratorio clínico del Hospital, de la siguiente manera: se inició con la siembra de la muestra en el medio de cultivos para secreciones: Agar Sangre (Ver anexo No 13) previamente preparado (Ver anexo No 9), a las 24 horas de incubación a 37°C, se revisaban para observar si existía crecimiento bacteriano y se procedía a la identificación a través de la prueba de catalasa y coagulasa (Ver anexo No 13 y 14), si se aislaba la bacteria de interés se realizaba el antibiograma (Ver anexo No 15, 16, y 17), posteriormente se determinó la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* (Ver anexo No 18).

Conjuntamente con cada elemento muestral se llevó un registro de calidad semanal utilizando cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. ( Ver anexo No 19 y 20) se obtuvieron resultados confiables (Ver anexo No 21)

Posteriormente se entregaron los resultados para que se incluyeran en los expedientes de cada paciente, después de obtenidos los resultados se utilizaron herramientas estadísticas tales como EPIINFO versión 6.04D, SPSS y EXCEL 2000 las cuales permitieron realizar las inferencias estadísticas para poder rechazar o aceptar las hipótesis y así elaborar conclusiones y recomendaciones.

**CAPÍTULO V**  
**PRESENTACIÓN DE LOS**  
**RESULTADOS.**

## 5. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Los resultados presentados a continuación son obtenidos de la ejecución de la investigación que se llevó a cabo en los meses de julio a septiembre de 2005, para comprobar la existencia de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, en muestras de secreción de heridas y abscesos en pacientes de 20 a 70 años, ingresados en los servicios de medicina hombre y medicina mujer, en el Hospital Nacional San Juan de Dios, de la ciudad de San Miguel.

Para el análisis de los resultados, se formuló un plan de análisis para que los datos se presentaran en forma sistémica, y hubiese “apareamiento” de las variables, utilizando los siguientes parámetros en el ordenamiento de estos:

- Se definieron los siguientes términos para facilitar el “apareamiento” y cruce de las variables:
  - **Sensible:** Los pacientes cuyo resultado del antibiograma mostró sensibilidad a todos los antibióticos.
  - **Resistente:** Los pacientes cuyo resultado del antibiograma mostró resistencia a mas de un antibiótico.
  - **Control de calidad excelente:** antibiograma control cuyo resultado de las lecturas de los halos de inhibición se encuentra con un grado de libertad (1mm) por debajo y arriba de la media.

- **Control de calidad regular:** antibiograma control cuyo resultado de las lecturas de los halos de inhibición se encuentra con 2 grados de libertad por debajo y arriba de la media.
- **Control de calidad malo:** antibiograma control cuyo resultado de las lecturas de lo halos de inhibición se encuentran con 3 grados de libertad (3mm) por debajo y arriba de la media.
- Para el análisis estadístico se utilizaron:
  - Distribución de frecuencias
  - Tablas de variables
  - En el control de calidad se definieron solamente dos grados de libertad que son traducidos en  $\pm 2\text{mm}$  de la media establecida por el NCCLS.

Distribución de frecuencias porcentuales, es presentado en cuadros y gráficos para facilitar su comprensión.

## 5.1 TABULACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS.

CUADRO No 1

### FRECUENCIA DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN MUESTRAS DE SECRECIÓN DE HERIDAS Y ABSCESOS.

ANTIBIOGRAMA	FRECUENCIA	%
SENSIBILIDAD	9	14,06%
RESISTENCIA	55	85,94%
TOTAL	64	100%

FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo.

#### ANÁLISIS:

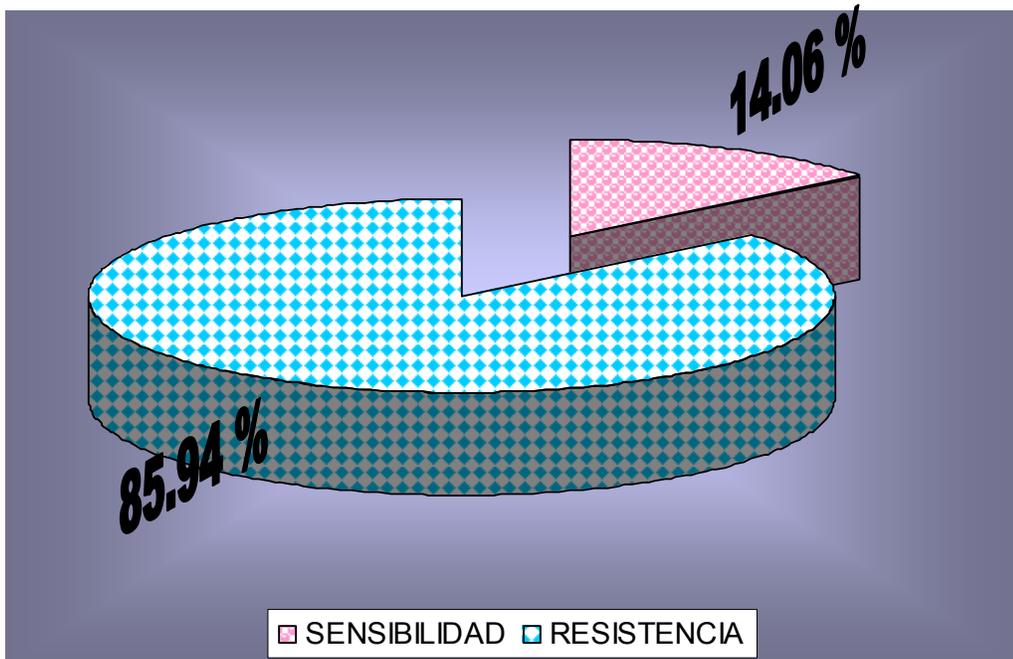
En el cuadro No 1 se muestran los resultados de la sensibilidad y resistencia que presentó *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos. Se puede observar que un 14,06 % de los antibiogramas realizados presentaron sensibilidad y un 85,94 % presentó resistencia.

## **INTERPRETACIÓN:**

El cuadro anterior demuestra que *Staphylococcus aureus* presentó mayor resistencia que sensibilidad. Lo que demuestra que esta bacteria se es menos sensible a los antibióticos. Por lo anterior se acepta la hipótesis nula.

**GRÁFICO No 1**

**FRECUENCIA DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN MUESTRAS DE SECRECIÓN DE  
HERIDAS Y ABSCESOS.**



FUENTE: Cuadro No 1

**CUADRO No 2**

**RESULTADOS DE LA RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS, DE LAS MUESTRAS DE HERIDAS Y  
ABSCESOS EN PACIENTES DE 20 A 70 AÑOS, INGRESADOS EN LOS  
SERVICIOS DE MEDICINA HOMBRE Y MUJER, DEL HOSPITAL  
NACIONAL SAN JUAN DE DIOS, DE SAN MIGUEL.**

ANTIBIÓTICOS	RESISTENCIA		SENSIBILIDAD		TOTAL	%
	FRECUENCIA	%	FRECUENCIA	%		
Vancomicina	0	0,00%	64	100,00%	64	100%
Eritromicina	47	73,40%	17	26,60%	64	100%
Clindamicina	28	43,75%	36	56,25%	64	100%
Oxacilina	30	46,90%	34	53,10%	64	100%
Sulfatrimetoprim	21	32,80%	43	67,20%	64	100%
Penicilina	38	59,40%	26	40,60%	64	100%

FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo.

## **ANÁLISIS:**

En el cuadro No 2 se plasman los resultados de los antibiogramas realizados a las muestras de secreción de heridas y absceso en pacientes de 20 a 70 años a los cuales se les aisló *Staphylococcus aureus*. En él se observa que el mayor porcentaje de resistencia antibacteriana se muestra en la Eritromicina con un 73.4% (47 antibiogramas) seguido de la Penicilina con 59.4% (38 antibiogramas), la Oxacilina muestra un 46.9% (30 antibiogramas) de resistencia, el 43.8% que corresponde a 28 antibiogramas que presentaron resistencia a la Clindamicina, un 32.8% (21 antibiogramas) corresponde al trimetoprim sulfametoxazol y 0% de resistencia a la Vancomicina.

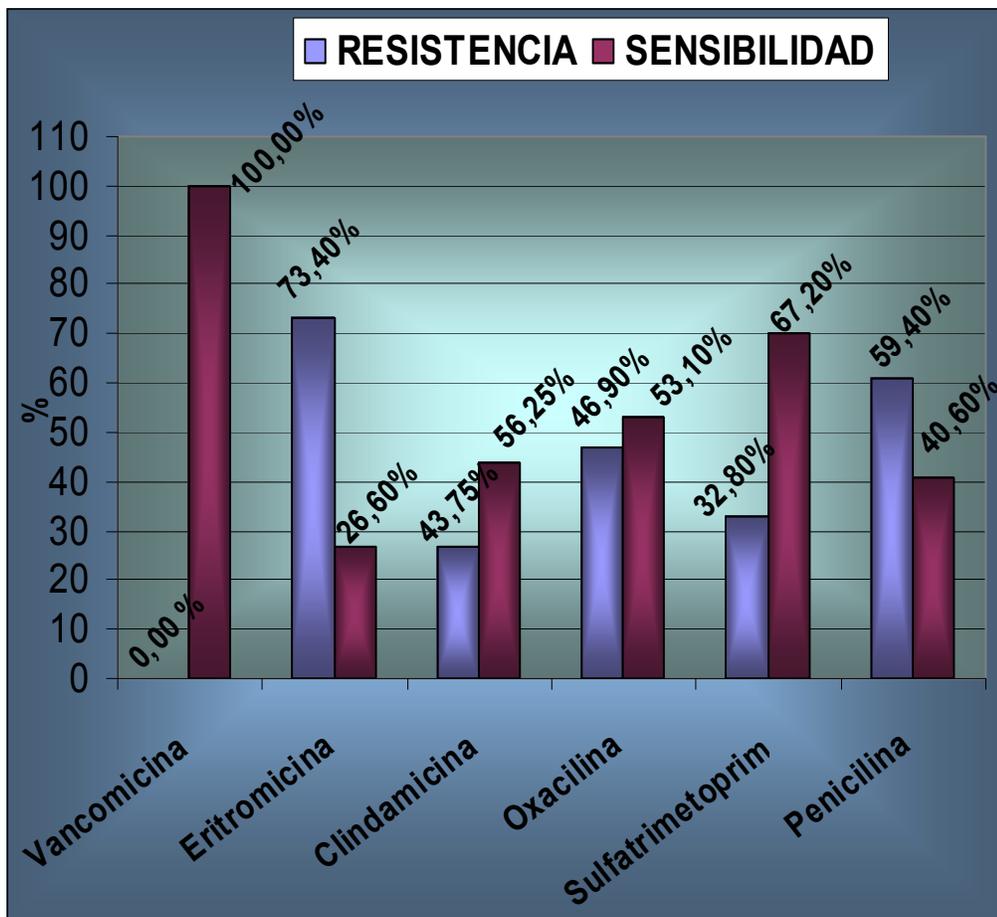
En contraste con estos resultados se observa que el porcentaje más alto de sensibilidad que es del 100% (64 antibiogramas) corresponde a la vancomicina, seguido del sulfatrimetoprim 67.2% (43 antibiogramas), 56.3% de la clindamicina, 53.1% arrojado por la oxacilina, la penicilina y eritromicina mostraron un 40.6% y 26.6% de sensibilidad respectivamente.

## **INTERPRETACIÓN:**

Como se muestra cuadro anterior el mayor porcentaje de resistencia pertenece a la eritromicina (73.4%) seguido de la resistencia de la Penicilina con 59.9%, por lo que la resistencia antibacteriana de *Staphylococcus aureus* es mayor en estos dos antibióticos que los demás utilizados, razón por la cual se acepta la hipótesis específica No 1 que reza de la siguiente manera: “*Staphylococcus aureus* posee mayor resistencia a la eritromicina y penicilina en la población en estudio”

## GRÁFICO No 2

RESULTADOS DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, DE LAS MUESTRAS DE HERIDAS Y ABSCESOS EN PACIENTES DE 20 A 70 AÑOS, INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DE MEDICINA HOMBRE Y MUJER, DEL HOSPITAL NACIONAL SAN JUAN DE DIOS, DE SAN MIGUEL.



FUENTE: Cuadro No 2

**CUADRO No 3**

**RESISTENCIA QUE PRESENTÓ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, SEGÚN LA EDAD DE LOS PACIENTES.**

GRUPO DE EDAD	SENSIBLES	RESISTENCIA			TOTAL
		UN ANTIBIÓTICO	DOS ANTIBIÓTICOS	TRES O MÁS ANTIBIÓTICOS	
MAYORES DE 40 AÑOS	2	3	5	20	30
	<b>6,66 %</b>	<b>10,00 %</b>	<b>16,67 %</b>	<b>66,67 %</b>	<b>46,88%</b>
MENORES DE 39 AÑOS	7	6	6	15	34
	<b>20,6 %</b>	<b>17,65 %</b>	<b>17,65%</b>	<b>44,12 %</b>	<b>53,13%</b>
TOTAL	9	9	11	35	64
	14,06 %	14,06 %	17,2 %	54,7 %	100 %

FUENTE: Resultado de laboratorio y diario de campo.

**ANÁLISIS:**

En el cuadro No 2 se puede observar que del total de 64 antibiogramas realizados, 30 corresponde a pacientes mayores de 40 años y 34 a pacientes menores de 39 años. De los correspondientes a los mayores de 40 años 20 presentaron resistencia a más de tres antibióticos que es un

66.7%, 5 presentaron resistencia a dos antibióticos que es un 16.67%, 3 presentaron resistencia a un antibiótico que es un 10.0 %, 2 presentaron sensibilidad todos los antibióticos que es un 0.60 % del total de pacientes mayores 40 años.

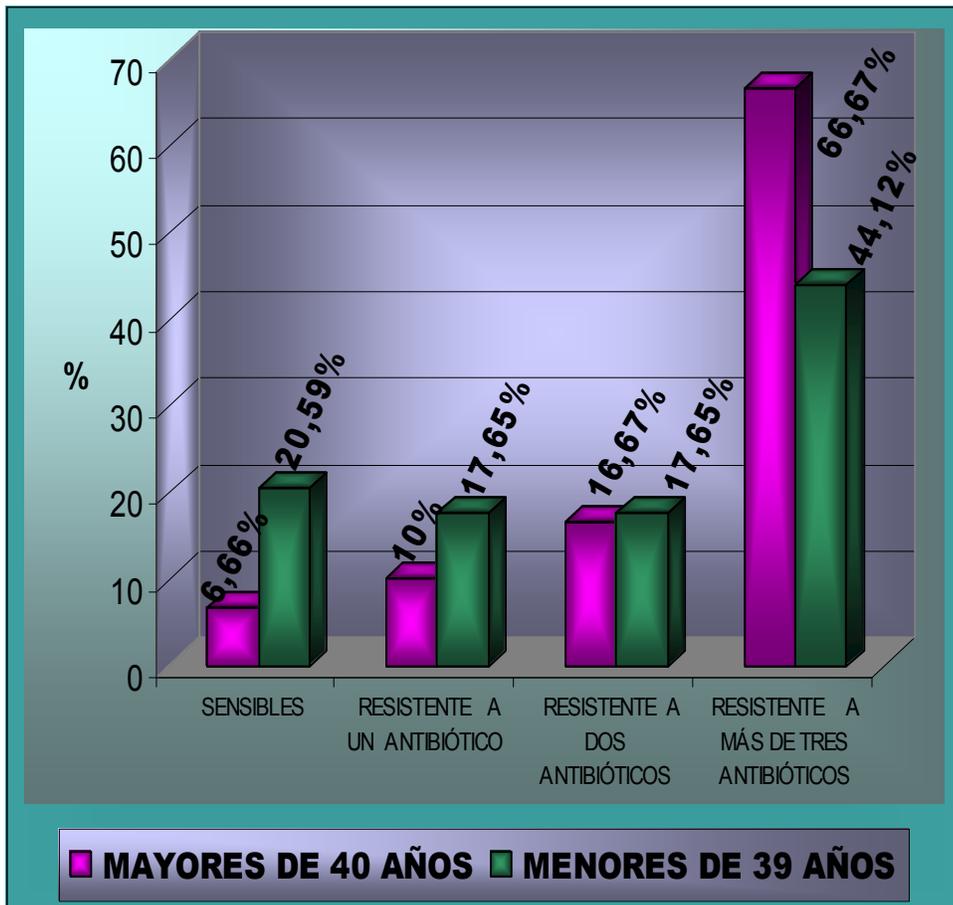
Por otra parte de los 34 antibiogramas restantes 15 (44.12 % de los antibiogramas de pacientes menores de 40 años) presentaron resistencia a más de tres antibióticos, en 6 se observó resistencia a un dos antibióticos que es un 17.65 %, 6 presentan resistencia a un antibiótico que es un 17.65 %, y por último 7 mostraron sensibilidad todos los antibióticos que es un 20.60 %.

#### **INTERPRETACIÓN:**

Como se observó el mayor porcentaje de resistencia de *Staphylococcus aureus* corresponde a los pacientes mayores de 40 años (66.7%), mientras que los pacientes menores de 39 años solo presentaron 44.12 % de resistencia antimicrobiana. Posiblemente esta resistencia que presentan los mayores de 40 años se deba a una disminución en las defensas, por la automedicación, infecciones antiguas por la misma bacteria el paciente ha tomado medicamento y crea resistencia. Por los resultados expuestos anteriormente se acepta la hipótesis específica No 2 que afirma que: “*Staphylococcus aureus* aislado de muestras de pacientes mayores de 40 años presenta mayor resistencia a los antibióticos”.

GRAFICO No 3

RESISTENCIA QUE PRESENTÓ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, SEGÚN LA EDAD DE LOS PACIENTES.



FUENTE: Cuadro No 3

#### CUADRO No 4

### RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

MONITORIZACIÓN	FRECUENCIA	%
MALO	0	0.00 %
REGULAR	1	14.29 %
EXCELENTE	6	85,71%
TOTAL	7	100%

FUENTE: Resultado los halos de inhibición del control de calidad.

#### ANÁLISIS:

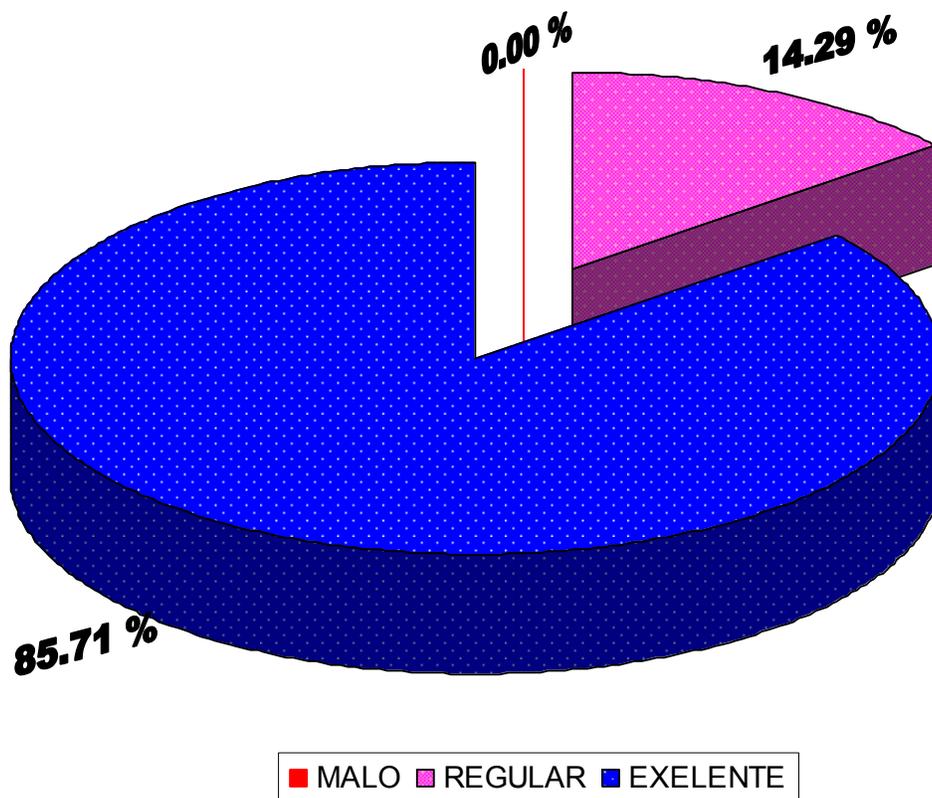
El cuadro No 4 muestra los resultados de la monitorización que aseguró la calidad y confiabilidad de los resultados de la investigación. Se puede observar que un 14.29 % correspondiente a uno de los antibiogramas monitorizados presentó resultados regulares y un 85.71% de antibiogramas presentó resultados excelentes.

## **INTERPRETACIÓN:**

El cuadro anterior demuestra que el mayor porcentaje se sitúa en un control de calidad de resultados excelente, lo cual asegura que los datos obtenidos son de calidad, y que se garantizan resultados confiables en la investigación. Por otra parte sólo un antibiograma (de 7) se ubica en la categoría de regular que según la NCCLS es aceptado. Por lo anterior se demuestra que la hipótesis específica No 3 que afirma: “la monitorización de la técnica de sensibilidad antimicrobiana es la base para obtener resultados confiables de resistencia antibacteriana” es aceptada.

**GRAFICO No 4**

**RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS.**



FUENTE: Cuadro No 4

## 5.2 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS GENERAL.

$P_1 > 0.8$  = Proporción más del 80% de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*

$P_1 \leq 0.8$  = Proporción menor o igual del 80% de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*



$$Z = \frac{\hat{P} - P}{\sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}}$$

$Z$  = Nivel de confianza  
 $Z_{\alpha}$  = Valor crítico que se quiere alcanzar  
 $\hat{P}$  = Proporción de la muestra  
 $P$  = Proporción de la población  
 $n$  = Total de la muestra

$$\hat{P} = \frac{55}{64}$$

$$\hat{P} = 0.86$$

$$Z = \frac{0.86 - 0.8}{\sqrt{\frac{(0.8)(0.2)}{64}}}$$

$$Z = \frac{0.06}{0.05}$$

$$Z = \frac{0.06}{\sqrt{0.0025}}$$

$$Z = 1.2$$

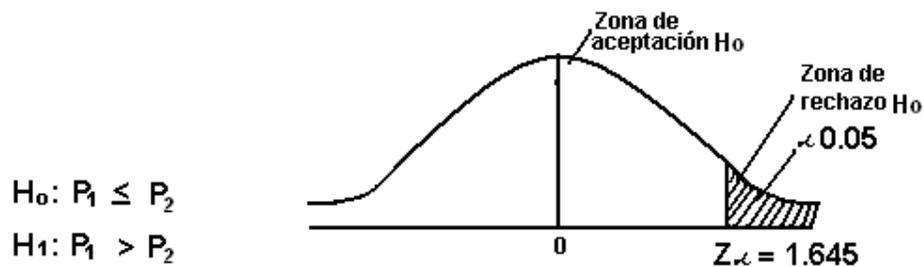
Conclusión: Como  $Z = 1.2$  es  $< Z_{\alpha} = 1.645$  con un 95 % de confianza se acepta la hipótesis ( $H_0$ ) afirma que la proporción de resistencia no es mayor de 80 % por lo tanto es menor o igual a 80 %.

### 5.3 COMPROBACIÓN DE LAS HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.

#### HIPÓTESIS ESPECÍFICA NO 1.

$P_1$ : Proporción de resistencia a eritromicina.

$P_2$ : Proporción de resistencia a penicilina.



$$Z = \frac{(\hat{P}_1 - \hat{P}_2) - (P_1 - P_2)}{\sqrt{\frac{\hat{P}_1(1 - \hat{P}_1)}{n} + \frac{\hat{P}_2(1 - \hat{P}_2)}{n}}}$$

$\hat{P}_1 = 0.73$   
 $\hat{P}_2 = 0.59$   
 $n = 64$

$$Z = \frac{(0.73 - 0.59) - 0}{\sqrt{\frac{(0.73)(0.27)}{64} + \frac{(0.59)(0.41)}{64}}}$$

$$Z = \frac{0.14}{0.08}$$

$$Z = \frac{0.14}{\sqrt{\frac{0.1971 + 0.2419}{64}}}$$

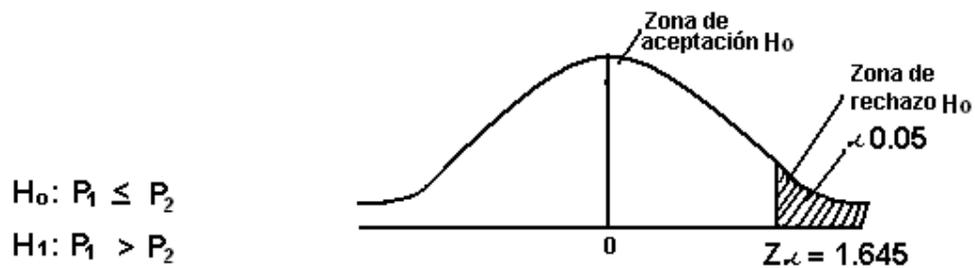
$$Z = 1.75$$

**Conclusión:** Como  $Z = 1.75$  es  $> Z_{\alpha} = 1.645$  se rechaza la  $H_0$  es decir que con un 95 % de confianza se acepta la  $H_1$  afirma que la resistencia en eritromicina es mayor que en penicilina.

**HIPÓTESIS ESPECÍFICA No 2.**

**P<sub>1</sub>:** Proporción de mayores de 40 años que presentan resistencia a más de 3 antibióticos.

**P<sub>2</sub>:** Proporción de menores de 40 años que presentan resistencia a más de 3 antibióticos.



$$Z = \frac{(\hat{P}_1 - \hat{P}_2) - (P_1 - P_2)}{\sqrt{\frac{\hat{P}_1(1 - \hat{P}_1)}{n_1} + \frac{\hat{P}_2(1 - \hat{P}_2)}{n_2}}}$$

$\hat{P}_1 = 0.67$   
 $\hat{P}_2 = 0.44$   
 $n_1 = 30$   
 $n_2 = 34$

$$Z = \frac{0.67 - 0.44 - 0}{\sqrt{\frac{(0.67)(0.33)}{30} + \frac{(0.44)(0.56)}{34}}}$$

$$Z = \frac{0.23}{0.12}$$

$$Z = \frac{0.23}{\sqrt{0.00737 + 0.00725}}$$

$$Z = 1.92$$

**Conclusión:** Como  $Z = 1.92$  es  $> Z_{\alpha} = 1.645$  se rechaza la Hipótesis nula ( $H_0$ ) es decir que con un 95 % de confianza se acepta la hipótesis general ( $H_1$ ) la cual manifiesta que los pacientes mayores de 40 años poseen mayor resistencia a más de 3 antibióticos.

**CAPÍTULO VI**  
**CONCLUSIONES Y**  
**RECOMENDACIONES.**

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

### 6.1 CONCLUSIONES.

Con base al análisis e interpretación de los resultados y a todo el proceso de investigación se concluye que:

- La resistencia de *Staphylococcus aureus* presenta un porcentaje de 80.00% en el año 2004 y para el tercer trimestre del año 2005 esta ha aumentando considerablemente hasta alcanzar un 85.94%.
- Que en la investigación realizada los pacientes mayores de 40 años presentaron resistencia a más de tres antibióticos (66.70%), esto posiblemente se debe a una disminución en las defensas o a un mal manejo de antibióticos por parte del paciente en ocasiones anteriores, por infecciones antiguas por la misma bacteria el paciente ha tomado medicamento y crea resistencia.
- Que las condiciones del Hospital Nacional San Juan de Dios de San Miguel, son las adecuadas para permitir las mutaciones de *Staphylococcus aureus*, lo que hace que este se vuelva cada vez mas resistente.
- Que debido a la alta resistencia de la bacteria en estudio los antibióticos de primera generación ya no suplen las necesidades de la población, sino que cada vez se necesitan antibióticos mas potentes para curar las infecciones, y los de segunda y tercera generación causan mas gasto económico al nosocomio por ende a la población.

- Que un control de calidad en cada uno de los pasos que conlleva el aislamiento de cualquier bacteria y la sensibilidad antibacteriana, da como resultado datos confiables y reales.
- Los objetivos propuestos al inicio de la investigación fueron cubiertos en su totalidad demostrando así la determinación de la resistencia de *Staphylococcus aureus*, el antibiótico al que *Staphylococcus aureus* presenta mayor resistencia, la edad en la cual esta bacteria se vuelve menos sensible y que una monitorización adecuada de las técnicas se pueden obtener resultados confiables y reproducibles.
- De las hipótesis planteadas se aceptaron las que aseguraban que las personas mayores de 40 años presentarían mayor resistencia a los antibióticos, que la monitorización de los resultados daría resultados confiables, además de que no existe un aumento de la resistencia de *Staphylococcus aureus* contra los antimicrobianos.
- Que de los 64 antibiogramas realizados 9 presentaron sensibilidad lo que indica un 14.06% y 55 (85.94 %) presentaron resistencia a los antibióticos, lo demuestra que la resistencia de *Staphylococcus aureus* es mucho mayor que la sensibilidad.
- Que *Staphylococcus aureus*, se vuelve oportunista al tener las condiciones adecuadas tales como sistema inmunológico deprimido, ambiente nosocomial contaminado y hacinamiento.

## RECOMENDACIONES.

Con lo anterior quedó comprobado que *Staphylococcus aureus* aumenta su resistencia a pasos agigantados con el transcurso del tiempo y por tal razón nos permitimos recomendar lo siguiente:

1. Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y al Consejo Superior de Salud Pública para que realice campañas de educación a la población para la “No Automedicación” y que controle la venta de medicamentos sin receta médica para así reducir la resistencia antibacteriana.
2. Al Laboratorio Central Max Bloch: para que la estandarización y monitorización del control de calidad de bacteriología sea más estricto en los diversos laboratorios públicos, y para que los resultados sean confiables y así evitar los errores falsos positivos y falsos negativos.
3. Al Laboratorio Clínico de este hospital, para que la toma de las muestras de laboratorio ya sea para el área de bacteriología u otra área, sea tomada por el personal de laboratorio y no por el personal de enfermería. Así se estaría garantizando un control de calidad en las etapas de laboratorio (toma de muestra, procesamiento y entrega de resultado).
4. A la población en general: que no se automedique y que finalice los tratamientos para evitar las recaídas, las mutaciones bacterianas y la resistencia antibacteriana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

### LIBROS:

BERKOW, Robert y FLETCHER, Andrew. **El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica.** 9a Edición Español. Editorial Dayma Libros, S.A. Barcelona. España 1994. 3110 Págs.

JAWETZ, Ernest y otros. **Microbiología Médica.** 13a Edición, Español, D.F. Mexico, Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 1992. 618 Páginas.

LYNCH, Mathew J. **Métodos de Laboratorio.** 2a .Edición. México NUEVA EDITORIAL INTERAMERICANA. S.A. de C.V. 1972. 1522 Págs.

LOPEZ BELTRÁN, José Francisco y SERPAS MONTOYA, Mario Vicente. **Guía Metodológica para la Elaboración de Protocolo de Investigación.** UIE (Unidad de Investigación y Evaluación). El Salvador, 2001. 72 Págs.

PIURA LOPEZ, Julio. **Introducción a la Metodología de la Investigación Científica.** Centro de Investigación y Estudios de la Salud. 4a . Edición. Managua, Nicaragua. 2000. 185 Págs.

KONEMAN, Elmer W. y otros. **Diagnostico Microbiológico.** 5ª edición. Buenos Aires Argentina. Editorial médica Panamericana. 1432 Págs.

MELLONI, Biagio Jhon y otros. **Diccionario Médico Ilustrado de Melloni**. Barcelona España, Editorial Reverté S.A. 1983, 598 Págs.

RIVERA, LÓPEZ, Julio. **Introducción a la Metodología de la Investigación Científica**. 1ª Edición en español, Managua, Nicaragua, Litográfica y Topografía Rojas, 1998, 134 Págs.

SAMPIERI HERNÁNDEZ, Roberto; FERNÁNDEZ COLLADO, Carlos; BAPTISTA LUCIO, Pilar. **Metodología de la Investigación**. 3ª edición, México D.F. Editorial McGraw-Hill, 2003, 705 Págs.

#### **DIRECCIONES ELECTRÓNICAS:**

- [http://66.102.7.104/search?q=cache:2KD\\_DI8P1dUJ:www.scielo.org.ve/scielo.php](http://66.102.7.104/search?q=cache:2KD_DI8P1dUJ:www.scielo.org.ve/scielo.php) (Consultado el 19/05/05)
- [http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/sarm.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/sarm.htm) (consultado el 20/05/05)
- <http://www.rincondelvago.com/antibiograma.html> (consultado el 25/05/05)
- [http://www.ups.com/content/mx/es/resources/select/receiving/services/express\\_plus.html](http://www.ups.com/content/mx/es/resources/select/receiving/services/express_plus.html) (consultado el 19/05/05)
- <http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm> (consultado el 23/05/05)

- [http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act11198.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act11198.htm) (consultado 24/05/05)
- <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF> (consultado el 12/06/05)
- [http://es.wikipedia.org/wiki/Alexander\\_Fleming](http://es.wikipedia.org/wiki/Alexander_Fleming) (02/05/05)
- <http://edicion-micro.usal.es/Web/educativo/micro2/tema20.html> (02/05/05)
- <http://www.monografias.com/trabajos16/estafilococosis/estafilococosis.shtml#taxon> (02/05/05)
- <http://textbookofbacteriology.net/staph.html> (04/05/05)
- <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/00001456.htm> (04/05/05)
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus> (10/05/05)
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mmed.chapter.737> (11/05/05)
- <http://www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/staph.htm> (11/05/05)
- [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11\\_2\\_97/ali03297.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11_2_97/ali03297.htm) (14/05/05)
- <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/press.plantilla?ident=14508&mail=Si> (01/06/05)

- <http://www.eurosurveillance.org/em/v02n12/0212-322.asp?langue=03&>  
(05/06/05)
- <http://www.qb.fcen.uba.ar/microinmuno/SeminarioAntibioticos.htm>  
(09/06/05)
- [http://html.rincondelvago.com/antibiograma\\_1.html](http://html.rincondelvago.com/antibiograma_1.html) (09/06/05)

# **ANEXOS**

ANEXO No 1

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES GENERALES A REALIZAR EN LA INVESTIGACIÓN SOBRE LA DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, EN MUESTRAS DE SECRECIÓN DE HERIDAS Y ABSCESOS EN PACIENTES DE 20 A 70 AÑOS, INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DE MEDICINA HOMBRE Y MEDICINA MUJER EN EL HOSPITAL NACIONAL SAN JUAN DE DIOS, DE LA CIUDAD DE SAN MIGUEL, EN PERIODO DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2005**

Actividades	Mes		Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio				Agosto				Septiem.				Octubre				Noviem.				Diciemb.			
	Sem		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Inscripción del Proceso																																										
Elaboración del Perfil de Investigación																																										
Elaboración del Protocolo de Investigación																																										
Ejecución del Protocolo de Investigación																																										
Elaboración del Informe Final																																										
Presentación del Informe Final																																										
Exposición del Informe Final																																										



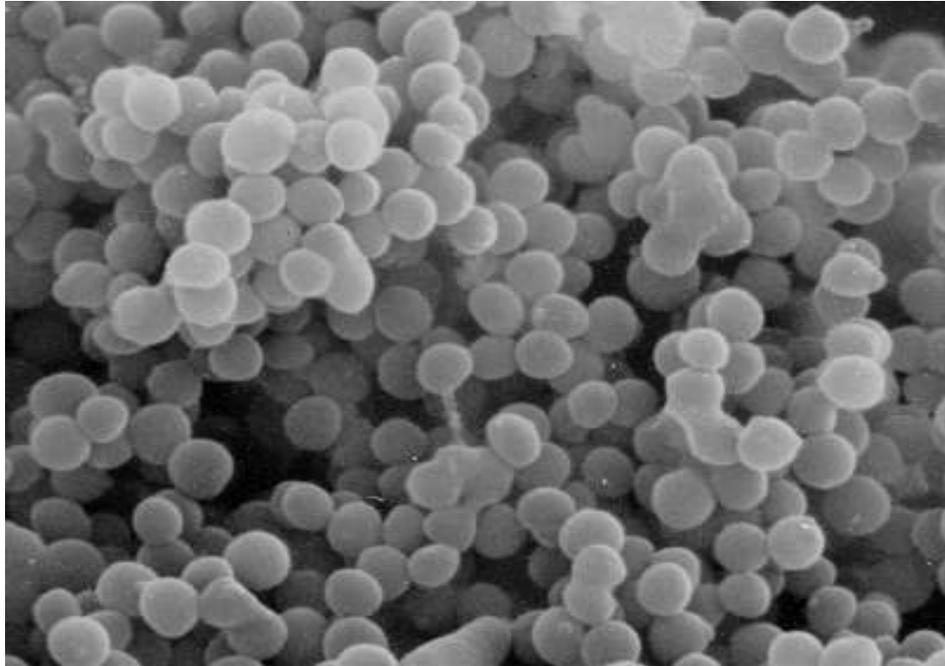
### ANEXO No 3

#### Especies que presentan los *Staphylococcus* encontrados en el hombre

*Staphylococcus aureus*  
*Staphylococcus epidermidis*  
*Staphylococcus saprophyticus*  
*Staphylococcus haemolyticus*  
*Staphylococcus warneri*  
*Staphylococcus hominis*  
*Staphylococcus simulans*  
*Staphylococcus lugduranensis*  
*Staphylococcus capitis*  
*Staphylococcus scheleiferi*  
*Staphylococcus pasteurii*  
*Staphylococcus auricularis*  
*Staphylococcus cohnii*  
*Staphylococcus xylosum*  
*Staphylococcus saccharolyticus*

#### ANEXO No 4

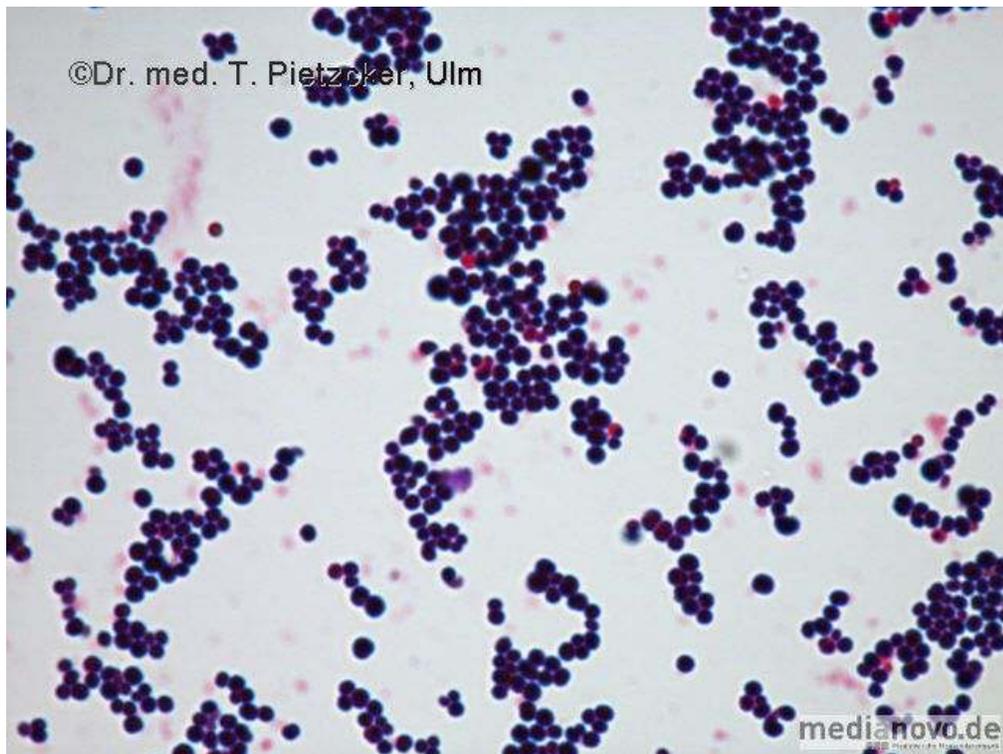
#### ESTRUCTURA MICROSCÓPICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.



La figura muestra que *Staphylococcus aureus* presenta una división celular en tres planos, junto a la tendencia de las células hijas de permanecer en estrecha proximidad para crear el aspecto característico estos grumos irregulares son tridimensionales, al examinar preparaciones frescas.

## ANEXO No 5

### ESTRUCTURA Y REACCIÓN TINTORIAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.



En la figura se observan los cocos gram positivos dispersos en racimos, tienen un diámetro aproximadamente de 1  $\mu$ m.

## ANEXO No 6

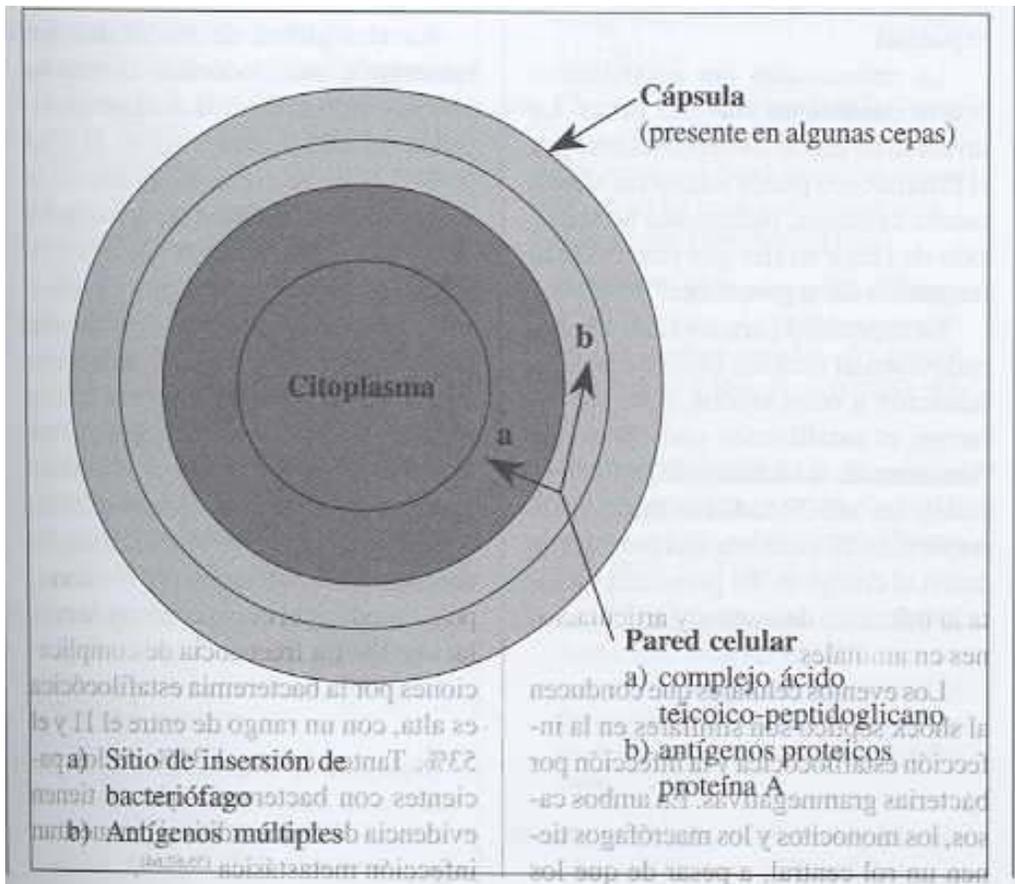
### MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.



En la figura se observan las colonias de *Staphylococcus aureus*, en agar sangre: Son redondeadas, uniformes, lisas, elevadas y resplandecientes, forman pigmentos de color gris a amarillo intenso.

ANEXO No 7

ESQUEMA DE LA ESTRUCTURA ANTIGÉNICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.



La figura muestra la estructura de *Staphylococcus aureus*.

## ANEXO No 8

### PREPARACIÓN AGAR MUELLER HINTON (1000 ML)



**A**



**B**

En la figura A, se observa la forma en que se pesó el medio, en la figura B, se demuestra el uso del pie de rey para obtener los 4 mm de profundidad.

- Se suspendieron 38 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada mezclando bien. Se calentó agitando frecuentemente y se dejó hervir durante un minuto.
- Se esterilizó a 121 °C a 15 libras de presión por 15 minutos
- Posteriormente se dejó enfriar entre 45 y 50 °C. Luego se distribuyó en placas de Petri hasta contener 4 mm de profundidad. Los medios se conservaron en refrigerador.

## ANEXO No 9

### PREPARACIÓN AGAR SANGRE (1000 ML)



**A**

**B**

En la figura A, se observa la forma en que se pesó el medio, en la figura B como se distribuyó el medio de agar sangre en placas de petri.

- Se suspendieron 40 g del medio base para agar sangre en 1000 ml de agua destilada en un frasco volumétrico estéril, mezclando continuamente.
- Se dejó en reposo por 5 minutos, luego se calentó agitando con frecuencia hasta estar bien disuelto. Y se esterilizó a 121 °C por 15 minutos.
- Se enfrió el medio estéril a 45 ó 50°C en un baño de maría se le agregó 50 cc de sangre de carnero estéril (5%), se mezcló y se vació en placas estériles aproximadamente 15 cc en cada placa. Esto se realizó en un cuarto cerrado y en el área del mechero para evitar contaminación de las placas. Los medios se conservaron en refrigeración.

## ANEXO No 10

### FORMA ADECUADA DE TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIONES DE HERIDAS.



En la figura se observa la forma adecuada en que se tomó muestras de secreción de herida:

Procedimiento: Se pasó un hisopo estéril por el borde interno de la lesión y se depositó el hisopo en el medio de transporte AMIES y fué trasladado al laboratorio.

## ANEXO No 11

### FORMA ADECUADA DE TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIONES DE ABSCEOS.



En la figura se observa la forma adecuada en que se tomó muestras de secreción de absceso:

**Absceso abierto:** Se pasó un hisopo estéril por el borde interno de la lesión. No del centro ni del borde interno. Se depositó el hisopo en el medio transporte AMIES y fue trasladado al laboratorio.

**Absceso cerrado:** se aspiró la muestra con jeringa, y fué trasladado al laboratorio.

## ANEXO No 12

### INOCULACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

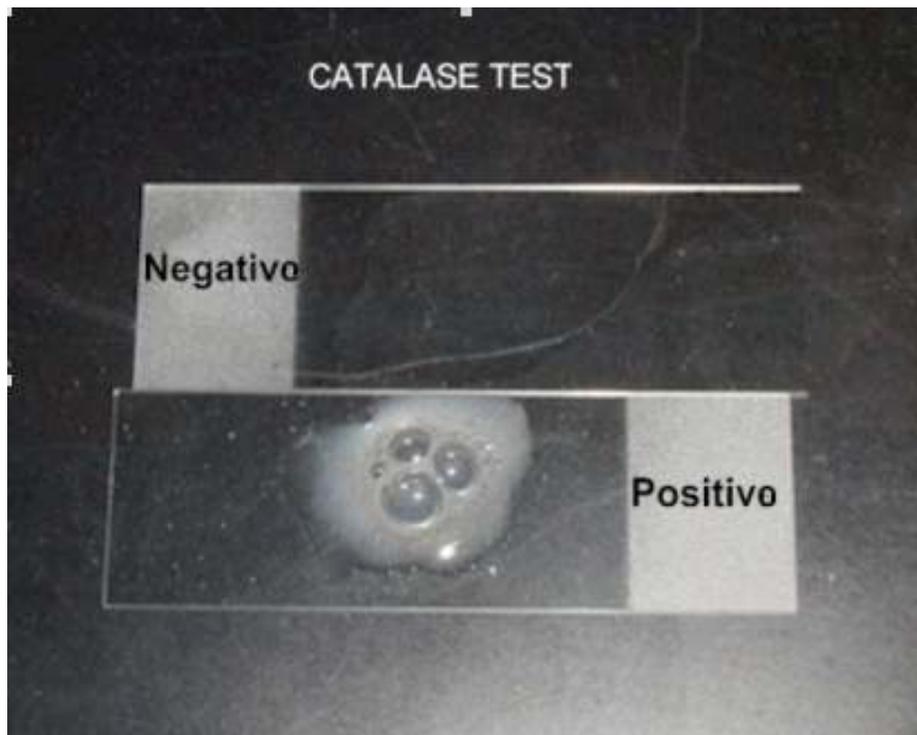


La figura muestra la forma en que se inocularon los medios de cultivo:

Los medios para la inoculación de las secreciones fué el agar; sembrado por agotamiento. El medio de elección para aislar estafilococos de muestras purulentas es el agar sangre. Los medios fueron incubados a 37 °C por 24 horas.

## ANEXO No 13

### PRUEBA DE LA CATALASA

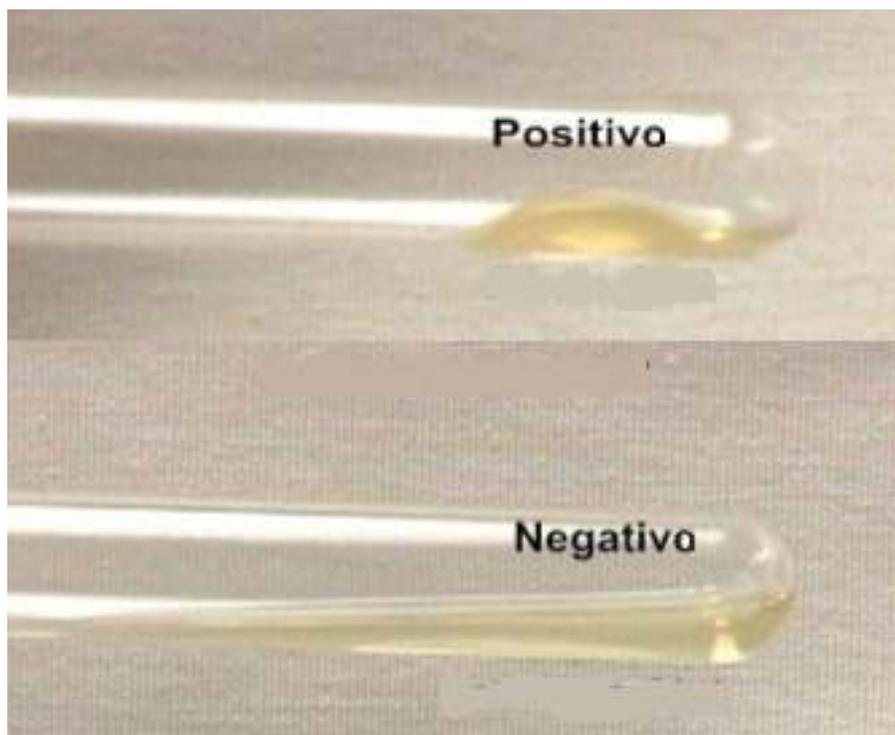


La figura muestra como se visualizó la prueba positiva y negativa de la catalasa. Una prueba negativa no forma burbujas (Género *Streptococcus*) y una prueba positiva forma burbujas (Género *Staphylococcus*).

Procedimiento: Se colocó una gota de solución de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos y sobre esa solución se colocó una pequeña cantidad de las bacterias en crecimiento.

## ANEXO No 14

### PRUEBA DE LA COAGULASA



La figura muestra la diferenciación entre coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus*) y coagulasa negativa (*Staphylococcus sp*)

Procedimiento: Se añadieron 0,2 ml de plasma a 0,8 ml de caldo nutritivo (sin glucosa) en un tubo pequeño. Se sembró con el estafilococo sospechoso y se incubó a 37°C en un baño de maría durante 6 horas. Se examinó a la hora y luego a cada hora, la formación de coágulos indicó coagulasa positiva y la ausencia de coágulos fué negativa.

## ANEXO No 15

### PREPARACIÓN DEL INÓCULO



**A**



**B**

En la figura A, se observa la forma en que se tomaron las colonias a partir del medio de agar sangre. En la figura B, la comparación del inóculo con la escala de MacFarland .

Procedimiento: Se tomaron de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y se inocularon en 5 ml de solución salina estéril, hasta conseguir una turbidez del 0.5 de la escala de MacFarland.

## ANEXO No 16

### INOCULACION EN EL MEDIO DE MUELLER HINTON.



La figura muestra la forma en que se estrió el medio de Muller Hinton.

Procedimiento: Antes de transcurrir 15 minutos de haber ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión y se retiró rotando varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.

Se estrió completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo por la superficie del agar tres veces, en diferentes direcciones, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

## ANEXO No 17

### SELECCIÓN Y DISPENSACIÓN DE LOS DISCOS



La figura muestra la forma correcta de cómo se colocaron los disco de antibióticos en una placa de Mueller Hinton. Los discos de antibióticos utilizados fueron la eritromicina, penicilina, clindamicina, sulfatrimetoprim, oxacilina y vancomicina.

Se colocaron los discos con pinzas estériles. Se aseguró que contactaran perfectamente con la superficie del agar, haciendo presión ligeramente sobre la superficie del mismo. Se distribuyeron de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Se incubaron las placas en forma invertida a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 18 horas.

## ANEXO No 18

### LECTURA DE LOS RESULTADOS



La figura muestra la forma en que midieron los halos haciendo uso de una regla.

Después de 18 horas de incubación se midió el diámetro de las zonas de completa inhibición con una regla. Las zonas de los medios transparentes se midieron sobre el reverso de la placa. El halo se observó utilizando luz transmitida para visualizar las colonias diminutas.

## ANEXO No 19

### CONTROL DE CALIDAD CON CEPA CONTROL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 25923.



En la figura se observa el empleo cepa control para supervisar la exactitud y fiabilidad de la metodología, debido también al gran número de variables que pueden afectar los resultados y que se han descrito anteriormente. Las cepas de control se mantuvieron en el congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ , con el fin de preservar su viabilidad y minimizar posibles modificaciones. Para resembrarlas se utilizó el asa con el que se rascó la superficie del material congelado (no hizo falta descongelarla) y se sembró en una placa de agar sangre. Se Incubó a  $35^{\circ}\text{C}$ , de 18 a 20 horas, se realizó una nueva resiembra que fue empleado para el ensayo. Se realizaron controles cada nuevo lote de medio de cultivo y cada nuevo lote de antibióticos. La cepa ATCC 29212 sirvió para detectar que el Mueller-Hinton contiene los niveles correctos de inhibidores al ensayar el trimetoprim y/o sulfametoxazol. Los resultados normalmente quedaron registrados en una libreta de Control de Calidad.

## ANEXO No 20

### CONTROL DEL INÓCULO



La figura muestra el tubo de la escala de MacFarland 0.5 el cual está protegido de la luz.

Se utilizó un tubo de MacFarland 0.5. Para prepararlo se emplea 0.5 ml de 0.048 M de  $\text{BaCl}_2$  (1,175%  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) en 99,5 ml de 0.18 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1% v/v) con agitación constante. La absorción a 625 nm ha de estar entre 0.08 y 0.10 (comprobar cada mes). Alícuotas de 4 a 6 ml se distribuyen en tubos con tapón de rosca y se guardan en la oscuridad a temperatura ambiente.

**Reproducibilidad:** el medio de Mueller-Hinton, regulado en su concentración de iones divalentes, presenta una buena reproducibilidad entre fabricantes. La reproducibilidad está condicionada a la correcta estandarización de la metodología y a la utilización de controles de calidad.

## ANEXO No 21

### PARAMETROS DE CLASIFICACIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN PARA LA MONITORIZACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANTIBIOGRAMAS

ANTIBIÓTICO	MEDIA	EXELENTE	REGULAR	MALO
Clindamicina * 24 – 30 mm	27 mm	26 - 28 mm	25 - 29 mm	24 - 30 mm
Eritromicina * 22 – 30 mm	26 mm	25 - 27 mm	24 - 28 mm	23 - 29 mm
Vancomicina * 25 – 31 mm	28 mm	27 - 29 mm	26 - 30 mm	25 - 31 mm
Oxacilina * 18 – 24 mm	21 mm	20 - 22 mm	19 - 23 mm	18 - 24 mm
Sulfatrimetoprim * 24 – 32 mm	28 mm	27- 29 mm	25 – 31 mm	24 – 32 mm
Penicilina * 26 – 37 mm	31 mm	30 - 32 mm	29 - 32 mm	28 - 34 mm

La tabla muestra los parámetros utilizados para la clasificación de los antibiogramas de control utilizados para monitorear los resultados de la ejecución de la investigación. Plasma el rango de lectura de los halos de inhibición preestablecidos, y muestra la clasificación estricta de lectura utilizada para fines de monitorización del control de calidad.

Se observan la media y la clasificación en excelente, regular y malo de control con un grado de libertad (99% de confianza).



**ANEXO No 22**

DIARIO DE CAMPO

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

OBJETIVO:

OBTENER DATOS NECESARIOS PARA LA REALIZACIÓN  
DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE RESISTENCIA  
ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

Nombre: \_\_\_\_\_

Sexo: M  F

Edad:

Servicio: \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_

Resistencia Antimicrobiana:

R

S

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

