

III

Organismos Gram Positivos

OBJETIVOS

Al finalizar este capítulo el lector deberá ser capaz de:

- Analizar los mecanismos de resistencia a la penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina y vancomicina en las especies de *Estafilococos*
- Escoger los agentes antimicrobianos apropiados contra las especies de *Estafilococos* para realizar las pruebas de rutina y los respectivos reportes
- Mencionar tres métodos de prueba que pueden ser usados para detectar resistencia a la oxacilina en las especies de *Estafilococos*
- Comparar y diferenciar los *Staphylococcus aureus* con resistencia verdadera (ORSA) a la oxacilina con los *S. aureus* con resistencia “borderline” a la oxacilina (BORSA)
- Usar los resultados de las pruebas de oxacilina y penicilina para predecir la susceptibilidad a otros agentes beta-lactámicos con estafilococos
- Describir métodos confiables para detectar *S. aureus* vancomicina-intermedio (VISA)

ANTECEDENTES

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

Los estafilococos coagulasa negativa (CoNS) son habitantes comunes de la piel y el tracto urinario. Su aislamiento en los cultivos por lo general indica contaminación. De todas maneras estos pueden ser patógenos significativos en pacientes inmuno deficientes y en aquellos con catéteres intravenosos y dispositivos médicos.

A pesar de que hay muchas especies de CoNS el que se aísla con más frecuencia en muestras clínicas es *S. epidermidis*. *S. saprophyticus* es una causa importante de infecciones urinarias agudas no complicadas. Los CoNS aislados son típicamente más resistentes que *S. aureus* a agentes antimicrobianos con una prevalencia de resistencia a los beta-lactámicos que llega al 60-70%. Por ende, la vancomicina se usa con frecuencia para tratar las infecciones por CoNS.

CASO DE ESTUDIO

Un hombre de 35 años de edad ingresó al hospital por una herida de bala en el abdomen. Cinco días después de la operación desarrolló una infección en la herida. El material purulento de la herida produjo un cultivo puro de *S. aureus*. Dos días después, se emitió el informe final del cultivo y las probas de susceptibilidad antimicrobiana. Sólo era sensible a vancomicina. Luego de recibir el resultado, el médico llamó al laboratorio para pedir que se probara frente a agentes adicionales debido a que el paciente tenía una historia de reacciones adversas a la vancomicina. Se habían probado varios agentes más pero no se informó al respecto porque el laboratorio tiene un protocolo de informes selectivos. El informe interno del laboratorio que se muestra a continuación presenta los resultados de todos los agentes antimicrobianos probados.

Ciprofloxacina	R
Clindamicina	R
Eritromicina	R
Gentamicina	S
Linezolida	S
Oxacilina	R
Penicilina	R
Tetraciclina	R
Trimethoprim/sulfamethoxazole	S
Vancomicina	S

Después de completar este capítulo el lector sabrá como responder al médico.

RESISTANCIA ANTIMICROBIANA

S. aureus Resistente a la Penicilina

En 1944, dos años después de la introducción de la penicilina, se reportó el primer *S. aureus* resistente a la penicilina. Se encontró que éste produjo una enzima penicilinasasa (un tipo de β -lactamasa) que hidrolizó el anillo beta-lactámico de la penicilina. Como se mencionó antes, en la actualidad, en muchas regiones geográficas la resistencia a la penicilina debida a la producción de beta-lactamasa excede el 90%.

S. aureus Resistente a la Oxacilina (ORSA)

La oxacilina y la meticilina son penicilinas semisintéticas que son estables a la β -lactamasa estafilocócica gracias a la ubicación estratégica de ciertas cadenas laterales en la molécula. Estos antibióticos fueron desarrollados específicamente para el tratamiento de infecciones causadas por *S. aureus* productores de beta-lactamasa.

Sin embargo, la resistencia a antibióticos del tipo meticilina pronto apareció por la emergencia del gene *mecA*. Este gene codifica para una nueva proteína PBP2a que se une a la penicilina. Esta proteína participa en la síntesis de la pared celular a pesar de la presencia de antibióticos tipo meticilina. Inicialmente, los primeros aislamientos se denominaron *S. aureus* resistente a la meticilina o MRSA, empero estas se denominan más apropiadamente *S. aureus* resistente a la oxacilina u ORSA puesto que es la oxacilina el antibiótico que generalmente se usa en las pruebas de laboratorio. Los ORSA se consideran resistentes a todas las penicilinas penicilinasas estables tales como oxacilina, meticilina, nafcilina, cloxacilina, y dicloxacilina. Además, todos los ORSA son resistentes a todos los demás agentes beta-lactámicos. Los ORSA usualmente son resistentes a múltiples clases de agentes entre los que se incluyen macrólidos, lincosamidas, y tetraciclinas. También pueden ser resistentes a las fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Los ORSA pueden demostrar resistencia homogénea o heterogénea a la oxacilina. En las cepas homogéneamente resistentes, todas las cepas hijas tienen *mecA* y son resistentes a la oxacilina. En las cepas heterogéneamente resistentes, toda la población tiene *mecA* pero muchas células no expresan resistencia a la oxacilina.

Resistencia “Borderline” a la Oxacilina

Con poca frecuencia el *S. aureus* tiene CIMs de oxacilina que se encuentran cerca del límite de interpretación de resistencia y se conocen como BORSA por sus siglas en inglés que significan *S. aureus* con resistencia “borderline” a la oxacilina. Al contrario de las ORSA estas cepas pueden ser tratadas mediante combinaciones de beta-lactámicos e inhibidores de beta-lactamasa. Éstas no portan el gene *mecA*, usualmente no tienen resistencia múltiple, ni tampoco crecen en oxacilina-agar salino. La BORSA puede ocurrir por uno de varios mecanismos. Algunas cepas son hiperproductoras de β -lactamasa que inactiva parcialmente a la oxacilina y otros beta-lactámicos. En otras cepas, raras, hay una modificación de PBP 1, 2 y 4 que no ligan la oxacilina de manera eficiente. Por último, algunas cepas con MICs cercanos al límite de susceptibilidad en realidad son productoras de *mecA* heteroresistente y generalmente no se les denomina BORSA.

Resistencia MLS

La resistencia a los macrólidos como la eritromicina y las lincosamidas como la clindamicina por lo general se debe a la presencia del gene *erm*. Estos genes *erm* poseen el código para la producción de una enzima ARN metilasa que modifica la zona ribosómica de unión de los macrólidos, lincosamidas y las estreptograminas B. Las cepas que poseen *ermA*, *ermB* o *ermC* típicamente son resistentes a la eritromicina, pero aparecen inicialmente como sensibles a la clindamicina (especialmente las cepas *ermC*). En aquellos aislamientos la resistencia a la clindamicina aparece después de la inducción con eritromicina.

Resistencia mediada por *msrA*

Un segundo mecanismo de resistencia a la eritromicina es mediado por el gene *msrA*. Este gene codifica para la producción de una bomba de eflujo que expulsa la eritromicina fuera de la célula. Las cepas *msrA* son susceptibles a clindamicina pero son resistentes a eritromicina.

Resistencia a Vancomicina

***S. aureus* vancomicina-intermedio (VISA)**

Recientemente se han descrito cepas con reducida susceptibilidad a la vancomicina (CIMs 8-16 µg/mL) y completamente resistentes (CIMs ≥32 µg/mL). Las primeras cepas se denominan *S. aureus* vancomicina-intermedio (VISA) o *S. aureus* glicopéptido-intermedio (GISA). El mecanismo de reducida susceptibilidad a la vancomicina no está claro pero en parte se debe a un engrosamiento de la pared celular que contiene precursores capaces de ligar la vancomicina extracelularmente. Examine la fotografía de una micrografía electrónica de células VISA. La mayoría de VISAs son ORSA que contienen *mecA*. La mayoría de VISAs se han detectado en pacientes con una historia de uso de vancomicina e infección por ORSA. Menos de 50 casos clínicos de infección por VISA se han reportado en todo el mundo. Sin embargo, se han reportado docenas de cepas con MICs de 4 µg/mL que es el límite superior de susceptibilidad. Estas cepas deben ser consideradas potencialmente como VISA y se recomienda repetir la prueba.

Resistencia Completa a Vancomicina

Las cepas *S. aureus* con resistencia completa a la vancomicina se denominan VRSA. Como se mencionó antes éstas son extremadamente raras. Solo tres cepas se han detectado hasta mediados de 2004.

Resistencia en CoNS

La resistencia antimicrobiana en CoNS es similar a la que se observa en *S. aureus*, aunque estas son generalmente más resistentes. Como en *S. aureus*, la mayoría de la resistencia a oxacilina se debe a la presencia de *mecA*. Una susceptibilidad reducida a la vancomicina es más frecuente en *S. haemolyticus* y *S. epidermidis* que en *S. aureus*.

MÉTODOS

Consultar Cuadro 1 y Glosario I en el NCCLS M-100 para orientación sobre la selección de agentes antimicrobianos para pruebas de sensibilidad de estafilococos.

Prueba de Difusión por disco

El método de difusión por disco puede ser utilizado para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de estafilococos con ciertas modificaciones. El inóculo debe prepararse usando el método de suspensión directa de colonias. Este método se prefiere a los caldos de cultivo porque crecen lentamente, y subpoblaciones heteroresistentes pueden ser opacadas por células susceptibles que crecen más rápidamente. Por las mismas razones, éste debe completar 24 horas de incubación antes de determinar la susceptibilidad a oxacilina. Por último, las zonas de inhibición de oxacilina deben medirse con luz transmitida en vez de reflejada. El uso de luz transmitida permite una mejor detección de ORSA heteroresistente ya que éstas subpoblaciones podrían ser visibles solo como una ligera patina en el crecimiento. ORSA homogéneos presentan un crecimiento que confluye alrededor del disco de oxacilina.

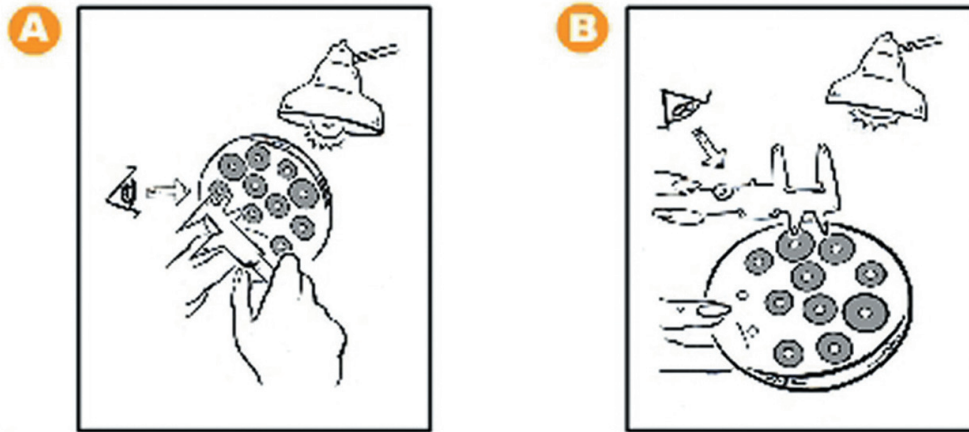


Figura 8.1.—A & B: Luz transmitida (A) vs. luz reflejada (B).

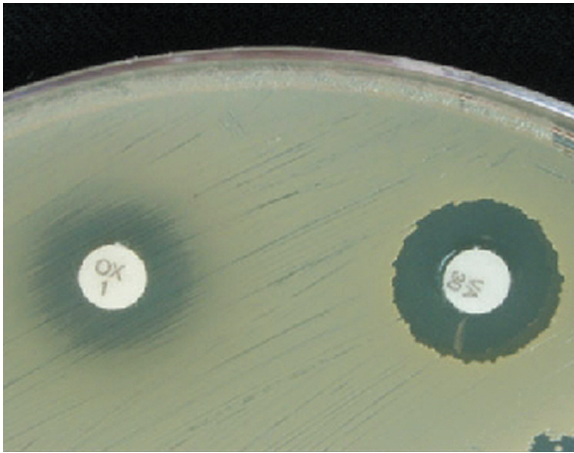


Figura 8.2.—Una ligera patina alrededor del disco de oxacilina indica heteroresistencia.



Figura 8.3.—Gran crecimiento que confluye alrededor del disco de oxacilina refleja resistencia homogénea.

Criterios de Interpretación de Oxacilina :

Como se puede ver en el cuadro siguiente, los criterios de interpretación de oxacilina para *S. aureus* son diferentes de los utilizados para CoNS. Para resistencia de *S. aureus* a oxacilina, una zona de inhibición ≥ 13 mm es susceptible, y ≤ 10 mm es resistente. El mismo método de difusión por disco es utilizado para todos los *Staphylococcus* spp. Pero los criterios de interpretación para CoNS son mayores, así una zona ≥ 18 mm es susceptible y ≤ 17 mm es resistente.

Criterios de Interpretación para Difusión de Disco de Oxacilina (mm)

Organismo	Susceptible	Intermedia	Resistente
<i>S. aureus</i>	≥13	11–12	≤10
CoNS	≥18		≤17

Uso de la Prueba de Disco de Cefoxitina para Predecir Resistencia a Oxacilina

Recientemente el NCCLS ha recomendado el uso de límites alternativos en la prueba de susceptibilidad de disco de cefoxitina como un método más preciso para predecir la resistencia a oxacilina mediada por *mec-A* en estafilococos. El método estándar de difusión por disco de cefoxitina de 30 µg se usa con los siguientes límites de interpretación:

Criterios de Interpretación de Disco de Cefoxitina para Susceptibilidad a Oxacilina

Organismo	Diámetro de la Zona de Disco de Cefoxitina (mm)	
	Susceptible a Oxacilina	Resistente a Oxacilina
<i>S. aureus</i>	≥ 20	≤ 19
CoNS	≥ 25	≤ 24

Aislamientos de estafilococos con diámetros de la zona de cefoxitina mayores o iguales al límite apropiado deben reportarse como susceptible a oxacilina, en cambio aislamientos con diámetros menores o iguales al límite apropiado deben reportarse como resistentes a oxacilina.

Prueba de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de Microdilución en Caldo

El método de microdilución en caldo puede ser utilizado para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de estafilococos con ciertas modificaciones. El inóculo debe prepararse usando el método de suspensión directa de colonias. Además, se debe usar como medio para la prueba de oxacilina el caldo de Mueller-Hinton con ajuste de cationes más NaCl al 2%. Por último, se debe completar 24 horas de incubación antes de determinar la susceptibilidad a oxacilina y vancomicina. Los criterios de interpretación de oxacilina para *S. aureus* son diferentes de los utilizados para CoNS. Para resistencia de *S. aureus* a oxacilina, una CIM de ≤2,0 µg/mL es susceptible, y ≥4 µg/mL es resistente. Para CoNS una CIM de oxacilina de ≤0,25 µg/mL es susceptible, y ≥0,5 µg/mL es resistente.

Criterios de Interpretación para CIM de Oxacilina (µg/mL)

Organismo	Susceptible	Resistente
<i>S. aureus</i>	≤ 2,0	≥ 4,0
CoNS	≤ 0,25	≥ 0,5

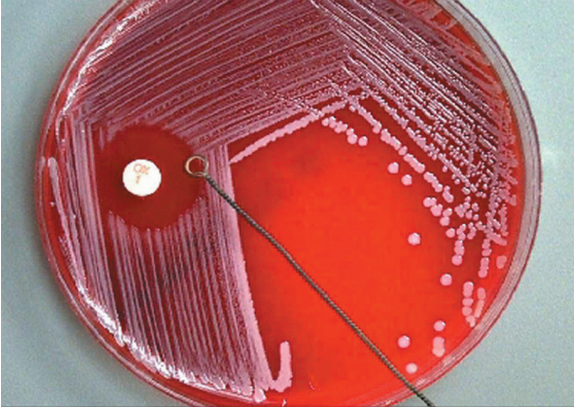


Figura 8.4—Seleccionando cepas que han sido inducidas para producción de beta-lactamasa.

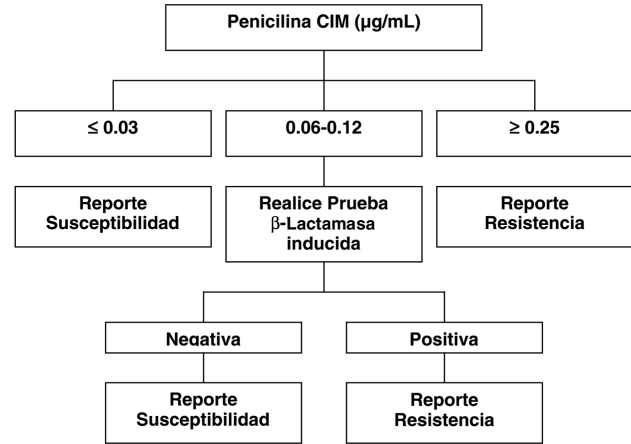


Figura 8.5—Estrategia para probar estafilococos con CIMs de penicilina intermedios.

Para aislamientos de estafilococos que producen CIMs intermedios de penicilina de 0,06-0,12 $\mu\text{g/mL}$, la susceptibilidad debe ser confirmada después de la inducción con oxacilina. Algunas de estas cepas podrían producir pequeñas cantidades de beta-lactamasa que pueden afectar la respuesta del paciente a la terapia. La inducción puede hacerse inoculando el aislamiento en agar sangre y agregando un disco de oxacilina. No es necesario utilizar una suspensión estandarizada para la inoculación. Luego de la incubación durante toda la noche, se debe seleccionar el crecimiento de la periferia de la zona de inhibición para una prueba convencional de beta-lactamasa. Si el resultado es positivo el aislamiento se reporta como resistente a penicilina.

Los criterios de interpretación desarrollados por NCCLS para pruebas de resistencia a oxacilina en CoNS se basaron en la presencia de *mecA* en cepas resistentes. Los límites se aplican a todos los CoNS a pesar de que funcionan mejor con *S. epidermidis*. Para infecciones severas causadas por otros CoNS con CIMs de oxacilina de 0,5-2 $\mu\text{g/mL}$ podrían ser apropiadas pruebas adicionales para *mecA* o PBP2a. Cepas que son *mecA* negativas o que no producen PBP2a deben reportarse como susceptibles a oxacilina.

Ocasionalmente, aislamientos *mecA* de *S. aureus* tienen una CIM a oxacilina de 4 $\mu\text{g/mL}$ que es el límite de resistencia. Estas cepas heteroresistentes deben ser diferenciadas de las cepas *mecA* negativas que tienen CIM con resultados “borderline” debido a un mecanismo diferente de resistencia. Ver el algoritmo en la Figura 8.6. Después de confirmar que el cultivo es puro y que la identificación es correcta el aislamiento debe ser analizado con un método rápido para *mecA* o PBP2a. Si cualquiera de estas pruebas es positiva, la CIM debe repetirse. Si la CIM es ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$, la cepa debe reportarse como susceptible a oxacilina. Si la CIM es ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$, la cepa debe reportarse como resistente con un mecanismo inusual de resistencia.

Prueba de Resistencia Inducible a Clindamicina

Como se mencionó anteriormente, los estafilococos pueden ser resistentes a la eritromicina ya sea por intermedio de genes *erm* o *msrA*. Las cepas con resistencia a eritromicina mediada por *erm* podrían tener resistencia inducible a clindamicina y podrían aparecer susceptibles a clindamicina en la prueba de difusión con disco.

Estrategia de Prueba de Oxacilina CIM

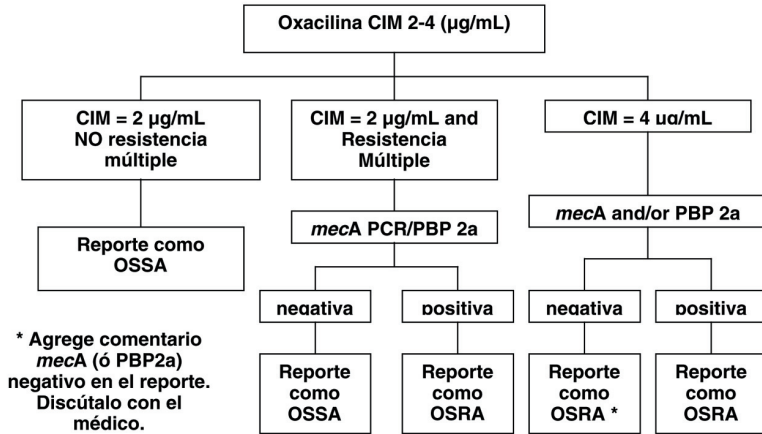


Figura 8.6—Estrategia para probar aislamientos con oxacilina CIM 2 a 4 µg/mL.



Figura 8.7—Achatamiento de la zona clindamicina debido a una resistencia inducible.

Tales cepas deben ser analizadas para determinar este atributo poniendo discos de eritromicina y clindamicina con una separación de 20 mm en un medio MHA inoculado con la cepa en cuestión. Luego de la incubación durante toda la noche, se debe buscar una zona achatada en forma de “D” de inhibición de clindamicina. Si la zona no es achatada el aislamiento debe reportarse como susceptible. Si la zona es achatada el aislamiento debe reportarse ya sea como resistente o como susceptible con la advertencia que durante la terapia con clindamicina podría desarrollarse resistencia.

Resumen de los perfiles de eritromicina y clindamicina en *S. aureus*

Eritromicina	Clindamicina	Determinante Genético	Fenotipo Inducible o constitutivo Clindamicina-R?
S	S	–	No
R	R	ermB	No, yaR
R	S	ermC	Si
R	S	msrA	No

Detección VISA/VRSA

La referencia del NCCLS para microdilución en caldo es confiable para la detección de VISA (CIM de vancomicina 8-16 µg/mL) y VRSA (CIM de vancomicina > 16µg/mL). El método epsilométrico (E-test) también tiene buen desempeño en la detección de estos organismos. La difusión por disco y algunos métodos comerciales automatizados no son confiables para la detección de VISA y VRSA. Si se usan estos métodos, deben realizarse pruebas complementarias utilizando crecimiento en agar BHI-vancomicina (6 µg/mL) por lo menos en las cepas ORSA. Para las cepas que crecen en este medio o si el paciente no responde a la terapia con vancomicina, se debe realizar una CIM de vancomicina. Los VISA crecen más lentamente que el típico *S. aureus* y puede tomar dos días para que desarrollen colonias visibles. La morfología de las colonias es variable en el mismo cultivo con grandes colonias entre blanco y crema, y pequeñas colonias grises. En caso de sospecha de VISA, (CIM 4-16 µg/mL) se debe repetir la identificación y la prueba de susceptibilidad. Además, se debe tomar contacto con el departamento de control



Figura 8.8—Morfología variable de las colonias por VISA, después de 48 horas de incubación.

de infecciones de la institución, el departamento local de salud, así como el CDC (*SEARCH@cdc.gov*). El aislamiento debe ser enviado al CDC para confirmación de la identificación y los resultados de susceptibilidad a vancomicina. Por último, el aislamiento debe conservarse.

Los criterios del CDC para confirmación de VISA son:

- Microdilución en caldo de vancomicina CIM = 8-16 $\mu\text{g/mL}$
- E-test de vancomicina CIM = 6-16 $\mu\text{g/mL}$
- Crecimiento en agar BHI-vancomicina (6 $\mu\text{g/mL}$) en 24 horas

Como con *S. aureus*, la difusión por disco y algunos sistemas comerciales no han sido confiables para la detección de CoNS con reducida susceptibilidad a vancomicina. Las especies que con mayor frecuencia presentan reducida susceptibilidad a vancomicina incluyen *S. epidermidis* y *S. haemolyticus*. La respuesta clínica podría ser escasa en algunos pacientes infectados con especies de CoNS que poseen una reducida susceptibilidad a vancomicina. Por lo tanto, si los CoNS de áreas del cuerpo normalmente estériles tienen una respuesta a vancomicina con CIMs ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$, podría ser útil hacer una identificación de especies.

Prueba CIM de Dilución en Agar para Todos los Agentes

Cuando se analicen estafilococos utilizando el método CIM de dilución en agar se debe usar el método de suspensión directa de colonias para la preparación del inóculo y el periodo de incubación debe durar 24 horas. Para la prueba de oxacilina el medio de prueba debe ser el agar Mueller-Hinton (MHA) complementado con NaCl al 2%.

Prueba de detección “Screening” para *S. aureus* en Oxacilina Agar-Sal

La prueba de detección “screening” para oxacilina en agar-sal es útil para identificar ORSA o para definitivamente confirmar resultados de oxacilina que resultan equivocados con otros métodos. No es confiable para CoNS. Debe ser inoculado utilizando el método de suspensión directa de colonias que alcance 0,5 del estándar de McFarland. Debe ser inoculado en máculas con un asa calibrada de 1 μL o con

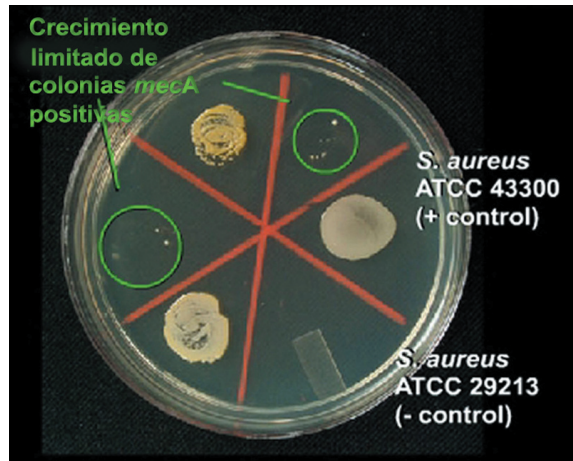


Figura 8.9—Oxacilina agar salado para detectar cepas positivas *mec A*.

un aplicador embebido en la suspensión del inóculo y diseminado en un área de aproximadamente 18 mm de diámetro. Luego el cultivo debe ser incubado por 24 horas. La aparición de > 1 colonia o película de crecimiento (incluyendo una ligera película) indica resistencia a oxacilina. El control de calidad se realiza utilizando *S. aureus* ATCC 29213 (susceptible) y *S. aureus* ATCC 43300 (resistente). Aunque esta prueba es conocida como detección “screening” los resultados pueden ser considerados definitivos para evaluar la resistencia a oxacilina en *S. aureus*.

Prueba Molecular para el Gene *mecA* o su Producto, PBP2a

La prueba molecular para el gene *mecA* o su producto, PBP2a, puede también realizarse para determinar el fenotipo resistente a oxacilina. Las pruebas moleculares para el *mecA* incluyen un ensayo de reacción cíclica (disponible como un “kit” aprobado por la FDA) y una reacción en cadena de polimerasa (PCR) que se realiza en el laboratorio. La PBP2a puede detectarse mediante una prueba de aglutinación de látex que está disponible comercialmente.

REPORTE DE RESULTADOS – BETA-LACTÁMICOS

Los resultados de las pruebas de oxacilina y penicilina se pueden utilizar para predecir la susceptibilidad a otros antibióticos beta-lactámicos. Por lo tanto, la penicilina y la oxacilina son los únicos beta-lactámicos que necesitan ser probados. Si una cierta cepa es susceptible a ambos antibióticos, es también susceptible a otras penicilinas, además de cefemes y carbapenemes. Si es resistente a penicilina pero susceptible a oxacilina, es resistente a penicilinas lábiles a beta-lactamasa pero susceptible a penicilinas estables a beta-lactamasa, y a combinaciones de inhibidores de beta-lactámicos/beta-lactamasa así como a cefemes y carbapenemes. Si la cepa es resistente tanto a penicilina como a oxacilina, es resistente a todos los beta-lactámicos.

Los resultados con otros antibióticos beta-lactámicos podrían reportarse al médico en forma de comentario. Por ejemplo, si una cepa es susceptible a oxacilina pero resistente a penicilina, el comentario podría decir “cefazolina y otros beta-lactámicos (excepto amoxicilina, ampicilina, y penicilinas) son activos para estafilococos resistentes a penicilina y susceptibles a oxacilina.” Los estafilococos resistentes a oxacilina, al margen de los resultados de susceptibilidad *in vitro*, deben reportarse como resistentes a todos los beta-lactámicos, incluyendo carbapenemes y combinaciones de inhibidores de beta-lactámicos/beta-lactamasa.

S. saprophyticus

S. saprophyticus es un CoNS que causa infecciones del tracto urinario. Estas infecciones usualmente son tratadas exitosamente con agentes antimicrobianos comunes para el tracto urinario. Un comentario al respecto puede añadirse al informe. A pesar que CIMs de oxacilina en *S. saprophyticus* típicamente varían entre 0.5-2.0 µg/mL (en la categoría resistente) esta especie usualmente carece del gene *mecA*. Por ende no están recomendadas las pruebas de susceptibilidad para aislamientos del tracto urinario.

CONTROL DE CALIDAD

Para instrucciones específicas sobre control de calidad de las pruebas de estafilococos consultar el Capítulo 6 de este manual. Las cepas de control de calidad recomendadas por NCCLS son:

- Difusión por disco – *S. aureus* ATCC 25923 (cepa susceptible a penicilina)
- Pruebas CIM– *S. aureus* ATCC 29213 (resistente a penicilina, cepa beta-lactamasa positiva)
- “Screening” oxacilina agar-sal - *S. aureus* ATCC 29213 (susceptible a oxacilina) y *S. aureus* ATCC 43300 (resistente a oxacilina)

COMENTARIO DE EL ESTUDIO DE CASO

Revise el Estudio de Caso en la Introducción de este capítulo y las susceptibilidades a los antibióticos que se presentan a continuación. Ahora debe ser capaz de explicar el fundamento de su protocolo de reportes de rutina y proveer resultados complementarios apropiados conforme a la solicitud del médico. Recuerde que la vancomicina no es apropiada para este paciente.

Resultados Reportados

Fuente de la muestra: Herida

Resultados: *Staphylococcus aureus*

Clindamicina	R
Eritromicina	R
Oxacilina	R
Penicilina	R
Vancomicina	S

Resultados de todos los antibióticos probados

Fuente de la muestra: Herida

Resultados: Muchos *Staphylococcus aureus*

Ciprofloxacina	R
Clindamicina	R
Eritromicina	R
Gentamicina	S
Linezolida	S
Oxacilina	R
Penicilina	R
Tetraciclina	R
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	S
Vancomicina	S

Una respuesta apropiada para el médico sería una explicación del fundamento de (o argumentos en contra) las pruebas y resultados complementarios de agentes antimicrobianos para tratar los ORSA del paciente.

- Gentamicina. A pesar que el aislamiento es susceptible a gentamicina, este antibiótico no es reportado en forma rutinaria porque los aminoglucósidos no se consideran agentes de primera línea contra estafilococos. Estos se utilizan, a veces, en combinación con un agente activo de pared celular (eje. vancomicina) para tratar infecciones estafilocócicas severas.
- Fluoroquinolonas. El aislamiento del paciente es resistente a ciprofloxacina que es una fluoroquinolona. Esto no es inusual en ORSA. Los estafilococos que son resistentes a una fluoroquinolona son típicamente resistentes a otras fluoroquinolonas.
- Trimethoprim/sulfamethoxazole. El aislamiento es susceptible a este antibiótico. Algunos laboratorios reportan rutinariamente trimethoprim/sulfamethoxazole en ORSA a pesar que no se considera un agente de primera línea en la mayoría de infecciones por ORSA.
- Otros beta-lactámicos aparte de oxacilina. Este aislamiento es un ORSA y por tanto es resistente a todos los beta-lactámicos.
- Tetraciclinas. El aislamiento es resistente a tetraciclina. Sin embargo, es posible que otras tetraciclinas (eje. doxiciclina, minociclina) sean más activas que la tetraciclina contra los estafilococos y ameritarían pruebas adicionales si su uso se considera una opción de tratamiento tomando como base la condición del paciente.
- Linezolida. El nuevo agente oxazolidinona, linezolida, no forma parte del panel de rutina del laboratorio para estafilococos, pero se está usando linezolida para tratar algunos tipos de infección por ORSA. A pesar que la resistencia entre los estafilococos es muy poco común, la linezolida debe ser probada si se considera una terapia con linezolida.
- Otros. El cloramfenicol, quinupristina-dalfopristina, y rifampicina no están en el panel de rutina del laboratorio para estafilococo, sin embargo, si alguno de estos se considera para tratamiento, estos deben ser analizados.
- Otros macrólidos aparte de eritromicina. Debido a que el aislamiento es resistente a eritromicina, puede ser considerado resistente a azitromicina y claritromicina. Estos tres antibióticos constan en conjunto en el Cuadro 1 de NCCLS con un “o” que significa que estos tienen la misma efectividad contra los estafilococos.

Tomando en consideración que los ORSA por lo general tienen resistencia múltiple, hay limitadas opciones terapéuticas para tratar infecciones producidas por ORSA. Si la vancomicina, el principal agente prescrito, no es apropiada para

un paciente en particular con una infección por ORSA, será mejor que el médico consulte con un médico infectólogo o un farmacéutico clínico cuando desarrolle el plan de tratamiento. Este plan se basará en el estado clínico del paciente y los resultados de las pruebas de agentes complementarios.

El médico infectólogo podría pedir al laboratorio realizar pruebas con agentes que no forman parte del panel de rutina. Cada laboratorio debe desarrollar una estrategia para manejar agentes que no están en el panel de rutina. Esto podría involucrar un sistema de pruebas de respaldo o la identificación de un laboratorio de referencia que puede probar agentes complementarios en un plazo perentorio. En este caso, el médico trató al paciente exitosamente con linezolid.

REVISIÓN

Recuerde

- Usar los estándares más actualizados de NCCLS (M2 y M7) para analizar estafilococos.
- Usar la prueba de “screening” oxacilina agar-sal sólo para *S. aureus* y no para CoNS.
- Para ORSA y CoNS resistentes a oxacilina confirmados reportar todos los beta-lactámicos, incluyendo combinaciones de carbapenemes e inhibidores de beta-lactamasa, como resistentes, a pesar de los resultados in vitro.
- Usar los resultados de las pruebas de oxacilina y penicilina para deducir los resultados de otros beta-lactámicos en estafilococos.
- Advierta inquietudes especiales de las pruebas para detectar estafilococos con susceptibilidad reducida a vancomicina.

PREGUNTAS DE AUTO-EVALUACIÓN

1. Para cada una de las siguientes características, indique aquellas que se relacionan con ORSA y aquellas que se relacionan con BORSA
 - A. Contiene *mecA*
 - B. Contiene una nueva proteína de unión a la penicilina, PBP 2a
 - C. Contiene PBPs 1, 2, y 4 modificadas
 - D. Tiene resistencia múltiple
 - E. Es raro que se encuentre en muestras clínicas
2. ¿Cuál de los siguientes beta-lactámicos debe ser incluido en un panel de pruebas para *Staphylococcus* spp.? Seleccione todas las opciones que apliquen.
 - A. Penicilina
 - B. Oxacilina
 - C. Cefalosporina
3. ¿Cuál de las siguientes variedades adicionales de agentes antimicrobianos debe ser incluida en un panel de pruebas para estafilococos? Seleccione todas las opciones que apliquen.
 - A. Aminoglucósidos
 - B. Clindamicina
 - C. Fluoroquinolonas
 - D. Glicopéptidos
 - E. Macrólidos

- F. Tetraciclinas
G. Trimethoprim-sulfamethoxazole
4. ¿Si pone la prueba de difusión por disco en la incubadora a las 3PM, detectaría todos los ORSA si lee los cultivos a las 7AM del día siguiente?
- A. Sí
B. No
5. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta para pruebas de difusión por disco o CIM de microdilución en caldo para estafilococos? Seleccione todas las opciones que apliquen.
- A. Inóculo de suspensión directa de colonias.
B. Log o fase estacionaria del inóculo
C. Adición de NaCl al 2% al caldo de Mueller-Hinton con ajuste de cationes para la prueba de microdilución en caldo
D. 16-18 horas de incubación para todos los antibióticos
E. 24 horas de incubación para oxacilina
F. 24 horas de incubación para vancomicina
6. Indique si cada uno de los siguientes perfiles es típico de ORSA.

Antibiótico	A	B	C
Clindamicina	R	S	R
Eritromicina	R	S	R
Oxacilina	R	R	R
Penicilina	R	R	S
Trimetoprima-sulfamethoxazole	R	S	S
Vancomicina	S	S	S

7. ¿Cuál de las siguientes frases sería correcta para un *S. aureus* resistente a eritromicina y susceptible a clindamicina? Seleccione todas las opciones que apliquen.
- A. Reporte clindamicina S
B. Reporte clindamicina R
C. Realizar la prueba de inducción de clindamicina rutinariamente, y si es positiva reportar R, si es negativa reportar S.
D. Realizar la prueba de inducción de clindamicina solo bajo pedido. Si es positiva reportar S acotando que puede desarrollarse resistencia durante el tratamiento con clindamicina. Si es negativa reportar S.
8. Conteste a las siguientes frases Verdadero o Falso
- A. Los métodos de difusión por disco detectan confiablemente VISA.
B. Es importante informar a control de infecciones y a las autoridades locales de salud pública sobre los pacientes con probable VISA.
C. Los aislamientos de VISA deben guardarse para estudios más exhaustivos, incluyendo remisión a las autoridades de salud pública.
D. *S. aureus* con una CIM a vancomicina de 4 µg/mL debe considerarse sospechoso de VISA
E. El crecimiento de *S. aureus* en caja de "screening" agar vancomicina BHI (6 µg/mL) después de 24 horas de incubación es sugestivo de VISA
F. Los aislamientos de VISA son comúnmente encontrados.

9. ¿Para un *S. aureus* que es resistente a la penicilina y susceptible a la oxacilina, cuál de los siguientes se consideraría susceptible? Seleccione todas las opciones que apliquen.
- A. Amoxicilina-clavulanato
 - B. Ampicilina
 - C. Cefalotina
 - D. Piperacilina
10. ¿Qué debería hacer usted?
- Escenario: Usted aísla *S. saprophyticus* de dos cultivos de sangre y un cultivo de orina. *S. saprophyticus* en sangre no es común pero puede ocurrir. El médico está interesado en los resultados de susceptibilidad, particularmente para oxacilina.
- A. Realizar una prueba de difusión por disco de oxacilina.
 - B. Realizar una prueba CIM de oxacilina y utilizar los criterios de interpretación para *S. aureus*.
 - C. Realizar una prueba CIM de oxacilina y utilizar los criterios de interpretación para CoNS.
 - D. Realizar un análisis *mecA* o PBP2a
 - E. Informar al médico que no hay pruebas confiables de susceptibilidad para *S. saprophyticus*.
11. Conteste a las siguientes frases Verdadero o Falso
- A. Tanto la suspensión directa de colonias como el método de fase log de crecimiento pueden ser utilizados para preparar los inóculos para difusión por disco o pruebas CIM con estafilococos.
 - B. La caja de “screening” oxacilina agar-sal puede ser usada para analizar la resistencia a la oxacilina en *S. aureus* y CoNS
 - C. Resultados de las pruebas de oxacilina deben ser usados para predecir la actividad de los cefemes contra estafilococos.
 - D. El disco de difusión de vancomicina no es confiable para *S. aureus*.