

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología I

**Detección y erradicación de la colonización nasal
por *S.aureus*. Eficacia de mupirocín.**

Tesis Doctoral

M^a del Carmen Gaspar Gascó
Madrid, 1995



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
FACULTAD DE MEDICINA

CATEDRA DE MICROBIOLOGIA MEDICA
CATEDRATICO: PROF. J. J. PICAZO DE LA GARZA

CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID

D. JUAN J. PICAZO DE LA GARZA, CATEDRATICO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID Y D. JOSE FERERES CASTIEL, JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA PREVENTIVA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CARLOS DE MADRID,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral que presenta D^a. CARMEN GASPAR GASCÓ sobre el tema: **Detección y erradicación de la colonización nasal por *S. aureus*. Eficacia de mupirocin**, ha sido realizada bajo nuestra dirección, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autora, en condiciones tan aventajadas que la hacen acreedora del Título de Doctor, siempre que así lo considere el Tribunal designado.

Madrid, 14 de Noviembre de 1994

Juan J. Picazo de la Garza

José Fereres Castiel

Agradecimientos

Mi especial agradecimiento al Dr. Fereres por haberme brindado la oportunidad de desarrollar mi profesión en el laboratorio de Medicina Preventiva del Hospital Universitario San Carlos e investigar en el campo de la prevención de las infecciones hospitalarias. También al Dr. Picazo, por la inestimable ayuda que me ha prestado en la elaboración de este trabajo. A ambos agradezco sus consejos y asesoramiento.

Al Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Universitario San Carlos, por el apoyo recibido en todo momento, y especialmente a las Dras. Cristina Fernández, Rosa Coello y M^a José Calvente y al Dr. Francisco Cruzet, por su colaboración y entusiasmo en este tema, y a Paz Uribe, Pilar Sánchez, Manuela Ramírez y Cándida Polo, quienes con su abnegada labor diaria en el laboratorio, su apoyo y ánimos, han contribuido a que pueda presentar este trabajo.

Al Servicio de Microbiología Clínica del Hospital Universitario San Carlos, soporte de los datos de infección hospitalaria.

A la Dra. Angeles Torrellas y al Dr. Lorenzo Aguilar, del Departamento de Investigación Clínica de los laboratorios SmithKline Beecham por su colaboración en el diseño del ensayo clínico y por la confianza depositada en la realización de este trabajo.

A la Dra. A. Vindel y al Dr. Sáez Nieto, del Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III), por la fagotipificación de las cepas.

A María, Joaquín y Eva

INDICE



ABREVIATURAS	VII
I. INTRODUCCION	1
1. <i>Staphylococcus aureus</i> . Aspectos microbiológicos	2
2. Resistencia a los antibióticos	5
2.1. Resistencia mediada por betalactamasas	5
2.2. Resistencia a la meticilina	5
2.3. Resistencia a otros antimicrobianos.....	8
3. Infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i> . Aspectos clínicos	9
3.1. Infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM)	12
4. Infecciones por <i>Staphylococcus aureus</i> . Aspectos epidemiológicos	13
4.1. Estado de portador	15
4.2. Infecciones por SARM	18
4.3. Tipaje de cepas epidémicas SARM	20
5. Medidas para el control de brotes por SARM	23
6. Colonización nasal por <i>Staphylococcus aureus</i>	25
6.1. Métodos de detección	25
6.2. Tratamiento	26
6.2.1. Antimicrobianos utilizados	26
6.2.2. Mupirocín	27
6.2.2.1. Estructura	27
6.2.2.2. Actividad antimicrobiana	28
6.2.2.3. Mecanismo de acción	29
6.2.2.4. Farmacocinética	29
6.2.2.5. Utilidad clínica	30

II. JUSTIFICACION, OBJETIVOS E HIPOTESIS	32
III. MATERIAL Y METODOS	35
1. Lugar donde se desarrolla el estudio	36
2. Descripción del brote de infección hospitalaria por SARM	36
3. Medidas desarrolladas para el control del brote	37
4. Evaluación de la eficacia de las medidas de control	38
4.1. Recogida de datos	38
4.2. Método estadístico	39
5. Papel del personal sanitario en la transmisión del brote	39
5.1. Actuación en el personal hospitalario	39
5.2. Screening postnegativización	40
5.3. Análisis de los datos	40
6. Método microbiológico para el screening de portadores asintomáticos	41
6.1. Toma de las muestras	41
6.2. Medios de cultivo	42
6.3. Determinación de la sensibilidad a la meticilina	42
6.4. Fagotipificación de las cepas	42
6.5. Estudio comparativo de cuatro medios de cultivo para la detección de portadores de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
6.5.1. Diseño del estudio	43
6.5.2. Evaluación microbiológica	45
6.5.3. Método estadístico	45

7. Mupirocín en portadores nasales de SARM	46
7.1. Determinación de la sensibilidad de los aislamientos	46
7.2. Evaluación de la eficacia	46
8. Ensayo clínico randomizado, controlado con placebo de mupirocín cálcico en la erradicación del estado de portador nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
8.1. Diseño del estudio y medicación	46
8.2. Tamaño de la muestra	48
8.3. Técnicas microbiológicas	49
8.3.1. Muestras microbiológicas	49
8.3.2. Medios de cultivo	50
8.3.3. Identificación de los aislamientos.....	50
8.3.4. Valoración microbiológica	50
8.3.5. Antibiotipificación	51
8.3.6. Fagotipificación	51
8.4. Criterios para evaluar la eficacia clínica y microbiológica	52
8.4.1. Eficacia durante el tratamiento	52
8.4.2. Eficacia postratamiento	52
8.4.3. Evaluación durante el seguimiento	52
8.5. Evaluación de las reacciones adversas	53
8.6. Evaluación estadística	54
IV. RESULTADOS	55
1. Eficacia del programa de control del brote de infección hospitalaria por SARM	56
2. Papel del personal sanitario en la transmisión del brote	58
2.1. Prevalencia de portadores en relación con el brote	58
2.2. Características microbiológicas de las cepas procedentes de personal sanitario	59

2.3. Características generales de los trabajadores colonizados	59
2.4. Screening postnegativización. Comparación con grupo control	64
3. Comparación de cuatro medios de cultivo para la detección de portadores nasales de <i>Staphylococcus aureus</i>	66
4. Mupirocín en portadores nasales de SARM	71
4.1. Eficacia en pacientes	71
4.2. Eficacia en personal hospitalario	72
4.3. Resistencia microbiológica	72
4.4. Respuesta al tratamiento en portadores de cepas resistentes	73
5. Ensayo clínico randomizado, controlado con placebo de mupirocín cálcico en la erradicación del estado de portador nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>	74
5.1. Resultados microbiológicos	74
5.2. Resultados generales de la población de estudio....	80
5.3. Valoración de la eficacia	86
5.3.1. Eficacia durante el tratamiento	86
5.3.2. Eficacia postratamiento	89
5.3.3. Valoración durante el seguimiento	90
5.4. Efectos adversos	98
V. DISCUSION	101
1. Eficacia de las medidas de control	102
2. Papel del personal hospitalario en la transmisión del brote	104

3. Metodología microbiológica para la detección
de portadores nasales de SARM108

4. Mupirocin en portadores nasales de SARM112

5. Resistencia a mupirocín114

6. Ensayo clínico randomizado, controlado con
placebo de mupirocín cálcico en la erradicación del
estado de portador nasal de *Staphylococcus aureus*116

VI. CONCLUSIONES121

VII. BIBLIOGRAFIA124

Abreviaturas

ADN	Acido desoxirribonucleico
ARN	Acido ribonucleico
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
BHI	Brain heart infusion (caldo corazón cerebro)
BP	Agar Baird-Parker
CDC	Center for Disease Control, Atlanta
CIM	Concentración inhibitoria mínima
DE	Desviación estándar
HUSC	Hospital Universitario San Carlos
IC	Intervalo de confianza
LR+	Cociente de probabilidades de una prueba positiva
LR-	Cociente de probabilidades de una prueba negativa
MN	Agar manitol-sal
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NT	No tipable
SASM	Staphylococcus aureus sensible a meticilina
SARM	Staphylococcus aureus resistente a meticilina
UFC	Unidades formadoras de colonias
UCI	Unidad de cuidados intensivos
VP+	Valor predictivo positivo
VP-	Valor predictivo negativo

INTRODUCCION



1. STAPHYLOCOCCUS AUREUS. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Los estafilococos son cocos gram positivos, no formadores de esporas, que crecen bien a 37°C en medios de cultivo habituales, y con tendencia a agruparse en racimos, en especial cuando crecen en medios sólidos.

Pertenecen a la familia *Micrococcaceae* (cocos gram positivos, catalasa positivos) que contiene dos géneros, el género *Micrococcus* y el género *Staphylococcus*, que se distinguen por la capacidad de producir ácido de la glucosa en anaerobiosis de este último (105, 208).

Staphylococcus aureus se caracteriza por su crecimiento rápido en ágar sangre o medios no selectivos, tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, formando unas colonias bien definidas, lisas y convexas, blancas o con una coloración dorada característica debida a los carotenoides, y en muchas ocasiones produce hemólisis en ágar sangre (224).

Su identificación se basa fundamentalmente en las siguientes pruebas (224) :

- Catalasa (descomposición catalítica del H₂O₂).
- Coagulasa : Se basa en la acción de un enzima bacteriano que actúa sobre el fibrinógeno, formándose un coágulo de fibrina cuando se incuban microorganismos en plasma de conejo. Es positiva en *S.aureus*.
- Fermentación del manitol. Positiva en *S.aureus*
- Prueba de la desoxirribonucleasa : solubilización diferencial del ADN completo o sus fragmentos en ácido. Positiva en *S.aureus*.

Otros enzimas que produce *S.aureus* y que pueden utilizarse para su identificación son la lecitinasa y la lipasa (12, 13).

FACTORES PATOGENICOS

ENZIMAS :

Catalasa : El peróxido de hidrógeno es convertido en agua y oxígeno por la acción de la catalasa estafilocócica. Como la destrucción fagocítica de los estafilococos está mediada por radicales tóxicos de oxígeno producidos por polimorfonucleares, la producción de catalasa se correlaciona con la patogenicidad por contrarrestar los mecanismos de defensa del huésped (121)

Coagulasa : Estos enzimas, unidos a las células bacterianas o solubles, hacen que coagule el plasma al activar los pasos finales de la cascada de la coagulación. Su papel patogénico no está bien definido.

Hialuronidasa : Este enzima hidroliza el ácido hialurónico presente en la matriz acelular del tejido conectivo. No se conoce su posible papel patogénico.

Betalactamasas : La mayoría mediadas por plásmidos. Su importancia radica en la determinación de resistencia antibiótica.

Otros enzimas : Lipasa, desoxirribonucleasa, cuyo papel patógeno no ha sido definido. Se piensa que las lipasas pueden jugar un papel en la diseminación durante la infección (208).

TOXINAS

Alfa-toxina : Es una proteína heterogénea que daña la membrana de una gran variedad de células (leucocitos, eritrocitos, fibroblastos). Los mas sensibles son los eritrocitos. Es dermonecrótica (169).

Beta-toxina : Esta toxina muestra su efecto citotóxico degradando la esfingomielina, siendo por tanto activa frente a gran variedad de células (169).

Gamma-toxina : Lisis los eritrocitos de muchas especies por mecanismos desconocidos (169).

Delta-toxina : Hidrofóbica y termoestable. Altera las membranas biológicas por una acción detergente. Es capaz de inhibir la absorción del agua y estimular la producción de AMP cíclico en el íleo de conejo, lo que sugiere un papel en la patogenia de la diarrea aguda de algunas infecciones estafilocócicas (169).

Leucocidina : Ejerce una acción exclusiva sobre las células fagocíticas humanas y de conejo, produciendo granulocitopenia (169).

Exfoliatina : Existen dos toxinas exfoliativas :

La exfoliatina A, producto de genes cromosómicos, termoestable y se inactiva por EDTA, mientras que la exfoliatina B es de origen plasmídico, termolábil y estable en EDTA (169). Las cepas productoras de exfoliatina (se han relacionado con algún fagogrupo en Estados Unidos) son responsables del cuadro clínico conocido como síndrome de la piel escaldada estafilocócica (130, 169).

Toxinas asociadas con el síndrome del shock tóxico : El síndrome del shock tóxico es debido a la toxina 1 (SSTT-1) u otras enterotoxinas relacionadas (73, 175). La SSTT-1 es una proteína fuertemente inductora de la interleuquina 1 en cultivos de monocitos (96, 148).

Enterotoxinas : Existen cinco tipos serológicamente distintos de enterotoxinas (A-E). Las cepas enterotoxigénicas constituyen una causa importante de intoxicación alimentaria. Son notablemente

termoestables, y actúan aumentando el peristaltismo intestinal, probablemente por activación simpática (208).

2. RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS

2.1. RESISTENCIA MEDIADA POR BETALACTAMASAS

Poco después de disponer de la penicilina G, Spink (186) comunicó el aislamiento de una cepa de *S.aureus* resistente por medio de la producción de un enzima betalactamasa. La codificación plasmídica de este enzima favoreció su propagación, y actualmente la gran mayoría de las cepas de *S.aureus*, tanto hospitalarias como de la comunidad, son productoras de betalactamasas. Desde 1944, se conoce la relación entre producción de penicilinas por *S.aureus* y la resistencia a la penicilina (103).

Actualmente se han caracterizado cuatro tipos de betalactamasas (A, B, C y D), extracelulares y codificadas por plásmidos, capaces de hidrolizar a todas las penicilinas naturales y semisintéticas y con mucha menor eficacia sobre la meticilina y cefalosporinas (62, 118, 128). A excepción de las del tipo D, son inducibles por antibióticos betalactámicos, existiendo un caso extremo de hiperproducción de betalactamasas (129), llamada borderline o resistencia límite a la meticilina, que afecta a todos los antibióticos betalactámicos, y que se caracteriza por mínimas concentraciones inhibitorias de 4-8 mcg/ml para la meticilina, que disminuyen con la adición de ácido clavulánico o sulbactam. Estas cepas deben ser diferenciadas de las verdaderas cepas resistentes a meticilina.

2.2 RESISTENCIA A LA METICILINA

MECANISMO

Las primeras cepas de *S.aureus* resistente a meticilina

(SARM) fueron aisladas en el Reino Unido unas pocas semanas después de la introducción de este antimicrobiano (97, 107). Este tipo de resistencia que incluye también resistencia a otras penicilinas y a cefalosporinas, es debida a la alteración de las PBP (penicillin binding proteins) en estas bacterias (190). Se asocia a la síntesis de una nueva PBP supernumeraria de baja afinidad por la meticilina y los demás antibióticos betalactámicos, llamada PBP 2a o PBP 2' (41, 87). Esta nueva PBP 2a está ausente en las cepas sensibles a meticilina y presente en las resistentes, tanto de *S.aureus* como *Staphylococcus coagulasa negativa*.

Los antibióticos betalactámicos actúan uniéndose covalentemente a las PBP. Las PBP son enzimas que catalizan las reacciones cruzadas entre los polímeros de peptidoglicano, uno de los pasos finales de la formación de la pared bacteriana. Por ello, los antibióticos betalactámicos que inhiben a estas enzimas, son potentes inhibidores de la síntesis de la pared. La PBP 2a, al tener baja afinidad por los antibióticos betalactámicos, actúa cuando las otras PBPs normales están saturadas por el antibiótico, tomando entonces el control de la síntesis de la pared bacteriana y evitando la muerte del microorganismo.

El determinante genético de la resistencia a meticilina es de naturaleza cromosómica, y se denomina mec. Contiene el gen mecA, gen estructural responsable de la síntesis de PBP 2a y una amplia región con posibles funciones reguladoras de la expresión de resistencia (41, 88). Tanto mec como mecA están ausentes en las cepas sensibles a meticilina y presentes en las resistentes, tanto de *S.aureus* como de *Staphylococcus coagulasa negativa*.

La resistencia de *S.aureus* a la meticilina puede ser homogénea o heterogénea. La resistencia homogénea se caracteriza porque el 100% de la población bacteriana expresa la resistencia

constitutiva y uniformemente, independientemente de la temperatura de incubación. Son cepas muy infrecuentes y tienen unas altas CIMs a la meticilina (>500 mcg/ml) y demás antibióticos betalactámicos. En la resistencia heterogénea, la expresión es dependiente del pH, osmolaridad, inóculo y sobre todo de la temperatura. La resistencia, muy variable en cuanto a valores de CIM, se manifiesta mejor a 30 o 35 que a 37°C, y no lo hace a 42°C. En este grupo coexisten dos subpoblaciones independientes, una minoritaria, que expresa bien la resistencia con independencia de la temperatura, y otra mayoritaria termosensible, que para su detección es necesario incubar a menos de 37°C (91, 128).

Las cepas con resistencia heterogénea suelen ser también productoras de betalactamasas, y los antibióticos betalactámicos a concentraciones subinhibitorias pueden inducir la producción tanto de betalactamasas como de PBP 2a (137). Se ha demostrado también la homología entre fragmentos específicos del gen que codifica PBP 2a y los genes contenidos en plásmidos betalactamasa, lo que sugiere una correulación de la producción de PBP 2a y betalactamasa en estas cepas (18, 128).

Se han descrito también cepas resistentes a meticilina por la presencia de unas PBP modificadas distintas de las PBP 2a, y que se han denominado de resistencia modificada a la meticilina (MOD-SA) (56, 191).

DETECCION

En la rutina del laboratorio de microbiología, la detección de la resistencia a la meticilina debe ser extremadamente cuidadosa, dados los problemas técnicos que se han planteado anteriormente.

La NCCLS recomienda para el método de difusión la

utilización de discos de oxacilina mejor que de meticilina, de 1 mcg de carga, en ágar Mueller-Hinton suplementado con 4% de ClNa, y la incubación a menos de 37°C (30 o 35°C), durante 24 horas. Se pueden utilizar también placas de Mueller-Hinton con 6 mcg/ml de oxacilina o 10 mcg/ml de meticilina, como screening de meticilín resistencia. Cuando se realice la CIM, se hará en ágar Mueller-Hinton suplementado con 2% de ClNa y con oxacilina (138, 177).

En la actualidad existen técnicas de laboratorio, como las sondas de ADN y la reacción en cadena de la polimerasa, que ponen en evidencia el gen *mec*, responsable de la resistencia a la meticilina (5, 136, 197, 199).

Los métodos automáticos son los menos sensibles y específicos para detectar la resistencia a meticilina (90, 110, 164). En estos métodos de microdilución, las concentraciones celulares con las que se trabaja son muy pequeñas y por ello son poco específicos, ya que el porcentaje de células resistentes en las cepas heterogéneas es muy bajo, haciéndolos menos recomendables.

2.3. RESISTENCIA A OTROS ANTIMICROBIANOS

La resistencia a meticilina se combina a menudo con resistencia a otros grupos de antibióticos como aminoglucósidos, sulfamidas, trimetoprím, tetraciclinas y quinolonas (122)

El incremento de la aparición de cepas SARM resistentes a quinolonas ha sido espectacular. Las quinolonas, particularmente ciprofloxacina, se sugirieron como una alternativa en el tratamiento de las infecciones y colonizaciones por SARM, sin embargo la rápida aparición de resistencias limita su uso para este fin. Blumberg y cols. (22) describen como después de 1 año de uso de ciprofloxacina para el tratamiento de infecciones o

colonizaciones por SARM, pasaron de 0 a 79% de cepas con alto nivel de resistencia. En el mismo período de tiempo, en las cepas de *S.aureus* sensibles a la meticilina, se desarrolló un 13.4% de resistencia a ciprofloxacina. La tipación de los aislamientos SARM demostró que la resistencia se había desarrollado en diferentes cepas y que no se asociaba con la adquisición de un nuevo plásmido.

Otros autores describen esta resistencia a ciprofloxacina en las cepas SARM, fundamentalmente después de su utilización en el tratamiento de las infecciones o colonizaciones (31, 53, 151, 157, 183).

El desarrollo de resistencia a rifampicina durante la terapia de infecciones o colonizaciones por SARM con este antibiótico también ha sido descrita (65).

La vancomicina, o sus recientes alternativas (teicoplanina, daptomicina) mantiene su actividad frente a estas cepas, siendo el tratamiento de elección en las infecciones por SARM (34, 42, 119, 122, 133, 209, 217).

3. INFECCIONES POR S.AUREUS. ASPECTOS CLINICOS

S.aureus puede producir los siguientes cuadros clínicos : infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones profundas o diseminadas y enfermedad producida por toxinas (200).

Las infecciones de la piel pueden ser desde una ligera foliculitis a forúnculos. La escasa higiene, la maceración, el acné y la dermatitis son factores contribuyentes a su presentación. En ocasiones se presentan en forma de ántrax (agrupación de forúnculos), forunculosis o infecciones de las glándulas apocrinas, de repetición, con repetidos episodios. Otras infecciones estafilocócicas superficiales son las sicosis

en las que la infección se localiza en los folículos pilosos de la barba, y la mastitis de las mujeres lactantes, difíciles de curar y prevenir mientras dura la lactancia y que rara vez dan lugar a bacteriemias (204).

En ocasiones *S.aureus* coloniza el impétigo jugando un papel junto a *Streptococcus pyogenes*. El impétigo ampollar, con vesículas mas grandes, persistentes bien limitadas y con una costra menos permanente gris pardo o blanca, es debido a *S.aureus* fagogrupo II (204).

El síndrome de Ritter, de la piel escaldada, se debe a la producción de exfoliatina por ciertas cepas de *S.aureus*, es un proceso grave, raro en el niño mayor y adulto, afectando fundamentalmente a lactantes. La enfermedad se caracteriza por la aparición de grandes ampollas y por la separación de extensas zonas de la epidermis que dejan zonas desnudas bien delimitadas (208).

El síndrome del shock tóxico se presenta con mas frecuencia durante la menstruación de las mujeres que usan tampones vaginales que en sujetos con otros antecedentes. Es debido a la colonización y desarrollo de cepas de *S.aureus*, en general pertenecientes al fagogrupo I, productoras de toxinas. El foco puede ser, aunque con menor frecuencia extragenital (herida traumática o quirúrgica), y el hemocultivo habitualmente es negativo. Clínicamente se caracteriza por fiebre, eritema que llega a ser descamativo, hipotensión marcada, y afectación de tres o mas de los siguientes órganos o sistemas : gastrointestinal (vómitos y diarrea), muscular (mialgias y elevación de la creatinín fosfoquinasa), membranas mucosas (congestión conjuntival, faríngea y vaginal), riñón (piuria sin bacteriuria e insuficiencia renal), hígado (elevación de enzimas de citólisis y bilirrubina) y sistema nervioso central, con líquido cefalorraquídeo normal, alteraciones de la conciencia e

incluso signos focales (204).

Las bacteremias por *S.aureus* son frecuentes y a menudo graves. La mayoría de las veces son intrahospitalarias. Las infecciones focales origen de las bacteriemias, son fundamentalmente las infecciones de la piel, tejido celular subcutáneo, quemaduras, heridas infectadas y osteítis. En muchas ocasiones, la lesión cutánea está curada al sobrevenir la sépsis. En los drogadictos no se observa a menudo puerta de entrada evidente o existe una celulitis (204).

La septicemia por *S.aureus* es, en principio, grave porque es capaz de ocasionar shock séptico, coagulación intravascular diseminada y por la afectación predominante del endocardio, dando lugar a endocarditis rápidamente destructivas y a focos sépticos a distancia (204).

Las osteomielitis hematógena por *S.aureus* afecta fundamentalmente a las metáfisis de los huesos largos en los niños y a los cuerpos vertebrales en el adulto. Las infecciones de prótesis articulares y óseas adquieren un carácter de mayor agresividad y peor pronóstico cuando son por *S.aureus* que por otros gérmenes (204).

La neumonía estafilocócica primaria no es frecuente. Actualmente, sin embargo, se observan manifestaciones de infección estafilocócica pulmonar en el curso de septicemias estafilocócicas debidas a catéteres, pacientes en hemodiálisis crónica con dispositivo de acceso infectado (49) y en el curso de endocarditis del drogadicto que afecta al corazón derecho (194). Puede verse también en el curso de una osteomielitis hematógena y en el paciente intubado (204).

Clínicamente y radiológicamente no existen características típicas de la etiología estafilocócica en la neumonía. Los

factores que deben hacer pensar en una posible etiología estafilocócica son : presencia de factores predisponentes, escasa respuesta a tratamiento para otra etiología, rápida cavitación, múltiples áreas de consolidación pulmonar y desarrollo de empiema pleural (116, 160).

Otras infecciones que puede producir *S.aureus* son absceso renal, infecciones de orina (fundamentalmente en portadores de sonda), infecciones oculares (conjuntivitis, queratitis y endoftalmitis postraumática o postquirúrgica, y tromboflebitis del seno cavernoso (204).

S.aureus puede dar lugar a cuadros de intoxicación alimentaria cuando cepas productoras de enterotoxina se multiplican y la producen en el alimento. El cuadro se produce por la ingestión de enterotoxina, es de aparición brusca y tan solo unas pocas horas después de la ingestión del alimento contaminado y se caracteriza fundamentalmente por vómitos. En muchas ocasiones se relaciona con un manipulador de alimento portador de la cepa enterotoxigénica (21).

3.1. INFECCIONES POR SARM

Las infecciones producidas por SARM son similares a las descritas para *S.aureus* en general.

En brotes de infección hospitalaria por este microorganismo las infecciones mas frecuentes son de herida quirúrgica, tracto urinario, infección cutánea, bacteriemia e infección del tracto respiratorio inferior. La infección de la herida quirúrgica conlleva un aumento de la morbilidad y la posibilidad de complicaciones como osteomielitis y bacteriemias (67, 193).

Otras infecciones descritas por SARM son úlceras corneales (63), pericarditis (58), infección oral (124), mediastinitis

(78), conjuntivitis (29), enterocolitis necrotizante neonatal (144), mastitis (99), osteomielitis (72, 180) y pielonefritis (192).

Como factores asociados a las infecciones por SARM se han descrito la edad media elevada, la estancia prolongada en el hospital previa a la infección por SARM, el tratamiento antibiótico previo y la existencia de enfermedad de base como neoplasia, diabetes, etc. (67, 193).

La presencia de politraumatismos, heridas o úlceras en las infecciones cutáneas, la sonda vesical en el caso de bacteriurias, la intubación endotraqueal en el caso de neumonías, la utilización de catéteres venosos en el caso de bacteriemias, las intervenciones quirúrgicas, el tratamiento con esteroides o inmunosupresores, diálisis, alimentación parenteral, transfusiones etc., también influyen en la adquisición de estas infecciones (67).

4. INFECCIONES POR S.AUREUS. ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

En la mayoría de los casos la infección estafilocócica tiene una clara fuente, que puede ser endógena o exógena. La fuente endógena es el mismo paciente, previamente colonizado. Entre las fuentes exógenas, sujetos o animales cercanos son mucho mas frecuentes que el medio ambiente (200). En cuanto al mecanismo de transmisión, el contacto directo es el mas frecuente, aunque la vía aérea puede jugar un papel en algunos casos (9).

Otro importante problema atribuible a *S.aureus* son las toxiinfecciones alimentarias causadas por la presencia de su toxina en el alimento. En este caso el origen se encuentra casi siempre en un manipulador de alimentos portador nasal de la cepa enterotoxigénica (21).

La relación entre colonización nasal previa y desarrollo de infección de herida quirúrgica fue establecida ya en los años 50, y estudios posteriores relacionan el estado de portador con infecciones en pacientes sometidos a hemodiálisis o a diálisis peritoneal (140, 159). También se ha relacionado la colonización nasal con infecciones locales de repetición (forunculosis) (170), y parece que ciertos fagogrupos se relacionan mas con enfermedad cutánea (140). Sin embargo la mayoría de los portadores son asintomáticos. El papel de los portadores asintomáticos, tanto personal hospitalario como pacientes, en la transmisión de *S.aureus* en brotes de infección hospitalaria ha sido ampliamente descrito, y ha cobrado mayor relevancia en los brotes de infección por *S.aureus* resistente a meticilina (75, 170).

Ayliffe y cols. (8) demostraron la capacidad de dispersión de *S.aureus* por los portadores nasales, y que los cultivos del pelo se corresponden mejor con el grado de dispersión que los de manos o cara. Encontraron también, aunque en una serie muy pequeña, que los portadores nasales eran mas dispersadores que aquellos que además de portadores nasales lo eran en el periné. La asociación entre la dispersión y la colonización nasal tiene importantes implicaciones en el manejo de los pacientes y trabajadores colonizados en brotes de infección hospitalaria por *S.aureus*, fundamentalmente por cepas SARM.

También la densidad de colonización influye en la capacidad de dispersión de microorganismos al medio. En una serie, pacientes que albergaban mas de 10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) de *S.aureus* en el exudado nasal, fueron fuertemente dispersadores de microorganismos al medio ambiente y el 44% de ellos tenían colonización en localizaciones cutáneas (214).

En los años 60 se llevaron a cabo varios estudios para medir la tasa de adquisición nasal de *S.aureus* por pacientes y personal

en relación con posibles fuentes, obteniéndose tasas que oscilaron entre 6.4 y 9.4/100 pacientes/semana (113, 146, 162), pero en el último estudio de Parker (146), si se excluyen los pacientes pediátricos la tasa de adquisición de colonización nasal baja a 1.0/100 pacientes-semana. Este estudio fue llevado a cabo en un hospital con habitaciones individuales, y la baja tasa de adquisición soporta claramente la necesidad del aislamiento en el control de brotes de infección hospitalaria por este microorganismo, en especial por las cepas SARM.

Lidwell y cols. (114, 115) trataron de estudiar en adición a la tasa de adquisición de colonización nasal por *S.aureus*, la tasa de adquisición por fuente, mediante la fagotipificación de todos los aislados, encontrando que la fuente del organismo para una nueva adquisición nasal fue habitualmente otro paciente de la misma sala (4.3 adquisiciones/1000 pacientes-semana/fuente), pero los portadores nasales entre el personal hospitalario también contribuyeron a la nueva adquisición nasal en pacientes (2.4/1000 pacientes-semana/fuente). En estos dos estudios, las cepas resistentes a tetraciclina se diseminaron mas que las cepas sensibles.

4.1. ESTADO DE PORTADOR

S.aureus forma parte de la flora habitual de piel y mucosas de gran parte de sujetos sanos, siendo las fosas nasales el principal reservorio en el adulto (208), de donde puede diseminarse a la piel o transmitirse de una persona a otra.

Se pueden encontrar tres patrones en el estudio longitudinal del estado de portador nasal de *S.aureus* en población adulta (218) :

- Portadores persistentes (10-20%), siempre colonizados, y con frecuencia mantienen el mismo fagogrupo por meses o años

-
- Portadores intermitentes (60-80%), a menudo por cepas pertenecientes a distintos fagogrupos

 - No portadores (10-20%), nunca colonizados

Esto da lugar a que en cortes de prevalencia se encuentren tasas de portadores nasales que oscilen del 20 al 50%.

Factores que influyen en la prevalencia de colonización nasal por *S.aureus* son la raza, la edad y la exposición a antibióticos en el medio ambiente hospitalario, encontrándose tasas particularmente elevadas en niños de 5 a 7 años, enfermeras y neonatos hospitalizados (37). Sheagren informa un 12% de portadores nasales entre población base, un 25% en personal hospitalario, un 35% en diabéticos insulino dependientes y adictos a drogas por vía parenteral (por razón desconocida), un 60% en pacientes sujetos a hemodiálisis y un 75% en pacientes con enfermedad dermatológicas (179).

Como factores que pueden influir en el estado de portador, se ha descrito una especial afinidad de *S.aureus* por las células del epitelio nasal de portadores (2). *S.aureus* posee una proteína con dos componentes de pesos moleculares 60000 y 197000 que se unen específicamente a la fibronectina (68), glicoproteína de alto peso molecular que se encuentra en las superficies mucosas (223). Esta adherencia es independiente de la proteína A o del ácido teicoico contenido en la pared celular estafilocócica (203). La adherencia de los microorganismos gram negativos no depende de la fibronectina, lo que explica el que sean infrecuentes colonizadores de la mucosa nasal (221).

También el ácido teicoico es otro importante factor bacteriano responsable de la adherencia (35).

Otros factores que pueden influir en la colonización nasal

son factores locales como producción de inmunoglobulinas, aunque en pacientes con hipogammaglobulinemias con déficit de IgG e IgA, no se ha encontrado mayor tasa de colonización que en población normal (218) y la interferencia de la flora bacteriana preexistente también puede influir en la colonización (37).

El estado de portador ha sido relacionado con ciertos antígenos de histocompatibilidad (102), y hay autores que piensan que una particular cepa parece adaptarse a un particular huésped, y así el estado de portador puede depender de una interacción entre cepa y huésped (75, 218).

Se ha descrito la existencia de una relación entre el tamaño del inóculo de *S.aureus* y la probabilidad de adquisición nasal de este microorganismo. En un estudio experimental, se encontró una tasa de adquisición del 95% cuando el inóculo fue de 10^3 estafilococos, y 10% de los sujetos adquirieron la colonización con solamente 70 estafilococos (37). Shinefeld y cols. (181), obtuvieron tasas de colonización nasal tras la inoculación del 83-94%, y las cepas inoculadas persistieron mas tiempo en los sujetos que fueron tratados con agentes antimicrobianos previo a la inoculación que en aquellos que no fueron tratados. Esto soporta el concepto de interferencia de la flora bacteriana previa en la colonización nasal.

COLONIZACION CUTANEA

La colonización preferente de las fosas nasales anteriores, periné y axila en sujetos sanos, sugiere la existencia de factores específicos de la zona (37).

Aunque *S.aureus* puede ser depositado como flora transitoria en otros lugares como manos o cara, la colonización estable de estos sitios es rara cuando se compara con las localizaciones antes señaladas. En los recién nacidos lugares frecuentes de

colonización son la región umbilical y la ingle.

La colonización de la piel es también frecuente en pacientes con problemas dermatológicos (eczema o psoriasis) (141). La dispersión de escamas cutáneas es común en pacientes con dermatitis exfoliativas, favoreciendo la dispersión del microorganismo y su posible propagación en el medio hospitalario.

4.2. INFECCIONES POR SARM

Las primeras cepas de *S.aureus* resistente a meticilina fueron aisladas en el Reino Unido en 1961, unas pocas semanas después de la introducción de este antimicrobiano (97).

Comunicaciones de resistencia a meticilina en *S.aureus* fueron frecuentes en Europa en la década de los 60 (19, 48, 66, 97). Brotes hospitalarios ocurrieron en muchos hospitales europeos (189). En el mismo período de tiempo, brotes de infección nosocomial por SARM en EEUU fueron poco comunes, con solo dos brotes comunicados antes de 1976 (15, 143). A partir de ese momento, empezaron a describirse brotes, llegando a convertirse este microorganismo en un patógeno endémico nosocomial (89, 189).

Algunas cepas de SARM exhiben (sin que se sepa exactamente la razón) una mayor capacidad de diseminación, lo que les ha valido la denominación de epidemic-SARM (E-MRSA) (11).

Las infecciones nosocomiales por SARM ocurren primariamente en las Unidades de Cuidados Intensivos, Unidades de quemados y áreas quirúrgicas de grandes hospitales, pero también hay descritos brotes en hospitales pequeños (23, 26, 27, 50, 70, 147, 149, 196).

Probablemente SARM se introduce en los hospitales vehiculizado por los pacientes que han estado ingresados en otros centros donde SARM es endémico, pero hay también descritos brotes de origen comunitario, fundamentalmente en adictos a drogas por vía parenteral (172, 173).

El reservorio de estos microorganismos lo constituyen los pacientes infectados o colonizados y el personal hospitalario colonizado, transmitiéndose a otros pacientes fundamentalmente por contacto a través del personal o de fómites. La vía aérea y el medio ambiente, aunque de menor importancia, pueden jugar también un papel en la transmisión de SARM (171).

En España, el primer brote fue descrito en 1981, en el hospital Nta. Sra. de Aránzazu de S. Sebastián (150), sin embargo, se llegó al año 1986 con menos del 2% de resistencia a meticilina en *S.aureus* en el corte de prevalencia nacional realizado por el Servicio de Microbiología Clínica del Hospital General Gregorio Marañón de Madrid. Así, en ese momento, la resistencia a la meticilina en España, no pasaba de ser una anécdota o la descripción de un brote aislado (57, 150). En el año 1988, la situación seguía similar, como dato, en el III Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, celebrado ese año en Granada, solo una comunicación-póster describía la meticilín resistencia en *S.aureus* (1,5%) (168).

A pesar de la privilegiada situación que existía en aquel momento en nuestro país, los microbiólogos y preventivistas españoles sabían que debía esperarse la presencia de estas cepas epidémicas, y que era necesario estar preparados ante esta probable eventualidad, máxime teniendo en cuenta la estructura, tamaño y condiciones de trabajo de muchos hospitales españoles, que harían mas difícil el control de brotes.

4.3. TIPAJE DE CEPAS EPIDEMICAS SARM

Se han empleado una amplia variedad de métodos para tipificación de cepas SARM. Algunos de estos métodos emplean diferencias fenotípicas entre cepas como base para su tipificación, y aunque estos métodos se han usado ampliamente, presentan una serie de limitaciones debidas a la expresión variable de los parámetros fenotípicos. Recientemente se han desarrollado varios sistemas de tipificación basados en el análisis genético (métodos genotípicos) que soslayan en parte el problema de inestabilidad que tienen los métodos fenotípicos (205).

Entre los métodos de tipificación utilizados para estas cepas se encuentran :

Biotipificación

Es un método simple, rápido y reproducible, pudiendo incorporarse a la rutina de laboratorio, pero utilizando un esquema simple de tres o cuatro pruebas bioquímicas el poder de discriminación es limitado, y el utilizar una batería amplia de pruebas, supone mayor complejidad (205). Además presenta el problema de la adquisición y pérdida de enzimas a través de plásmidos y mutaciones.

Fagotipificación

Es el método clásico mas empleado en el estudio de brotes epidémicos de *S.aureus* (3, 4, 45, 163, 205). Para su empleo se ha de disponer de una serie de fagos específicos para *S.aureus*. En los últimos años han aparecido cepas no tipables con los fagos convencionales (205), siendo no tipables la mayoría de las cepas SARM aisladas en España (207). Para resolver este problema, se ha incorporado un grupo de fagos experimentales (163), o se

realiza fagotipificación tras tratamiento con calor y fagotipificación inversa (207).

Normalmente se realiza en laboratorios de referencia, lo que retrasa la disponibilidad de los resultados.

Serotipificación

Los diversos tipos de polisacárido capsular de *S.aureus* se pueden detectar mediante aglutinación con anticuerpos específicos. Entre las cepas de SARM predomina el serotipo capsular 5. Desde el punto de vista epidemiológico este método tiene un poder discriminatorio bajo (205).

Antibiotipificación

El antibiograma se realiza rutinariamente en todas las cepas patógenas en los laboratorios de microbiología. Así pues, es la primera indicación de la similitud o diferencia de varias cepas. Su poder de discriminación es bajo, dado que cepas distintas de SARM pueden presentar antibiograma igual. No obstante, dada su simplicidad se ha empleado como prueba complementaria en numerosos estudios (79, 82, 205).

Análisis electroforético de proteínas

Se basa en las características fisicoquímicas de las proteínas. Presenta el problema de la adquisición y pérdida de enzimas a través de plásmidos y mutaciones, similar a la biotipificación. Entre estas pruebas están :

- **Electroforesis de isoenzimas** : Mediante esta técnica se identifican variantes electroforéticas de ciertas enzimas metabólicas. El análisis electroforético de extractos celulares seguido de tinción específica para determinar la actividad

esterasa se ha utilizado para el estudio de cepas SARM. Aunque es una técnica con alto poder discriminatorio, su realización es compleja (205).

- **Electroforesis de proteínas totales** : El extracto de proteínas totales de SARM puede ser analizado sometiéndolo a electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS. La técnica es compleja (205).

- **Inmunoblotting** : En esta técnica, tras la electroforesis se realiza una transferencia de las proteínas a una membrana de nitrocelulosa, la cual se incuba con los anticuerpos específicos y se detecta el complejo antígeno-anticuerpo formado usando un anticuerpo marcado (205). Es muy reproducible y tiene un alto poder discriminatorio (33).

Análisis del ADN plasmídico

El análisis plasmídico proporciona un método rápido de caracterización de aislamientos bacterianos. Mediante el tratamiento del ADN plasmídico con enzimas de restricción, se consigue mejorar la discriminación en el caso de plásmidos de elevado peso molecular. Presenta el inconveniente de que el número de cepas SARM que no presentan plásmidos es muy variable (4-37%), y de que puede haber pérdida o adquisición de plásmidos durante el brote epidémico. Algunos plásmidos son muy inestables y pueden perderse durante el subcultivo y almacenaje de la cepa (205).

Análisis del ADN cromosómico

Se considera como el método mas estable, de referencia, en el estudio de un brote epidémico (205).

- **Electroforesis en geles de agarosa en campo constante** :

El análisis del ADN cromosómico mediante digestión con enzimas de restricción y separación mediante electroforesis en gel de agarosa en campo constante, genera un perfil de fragmentos de ADN complejo, y en ocasiones difícil de interpretar. Aunque se ha descrito su utilidad como marcador epidemiológico en el estudio de brotes por SARM (3, 98, 202), presenta un poder discriminatorio menor que el inmunoblotting (33).

- **Electroforesis en geles de agarosa en campo pulsante** : Es una modificación de la electroforesis convencional que permite separar moléculas de alto peso molecular, que se generan mediante enzimas que cortan a baja frecuencia. Se ha demostrado que presenta un poder discriminatorio superior al análisis plasmídico y a la fagotipificación en la investigación de brotes (155, 205).

- **Ribotipificación** : Consiste en el análisis de los fragmentos de restricción del ADN ribosomal mediante Southern blot e hibridación con ARN ribosomal marcado (205). Aparicio y cols. (3), en un estudio reciente demostraban que la ribotipificación presenta un poder discriminatorio igual a los métodos tradicionales, y Prevost y cols. (154) comunican un menor poder discriminatorio de esta técnica que la electroforesis en campo pulsante.

Se están desarrollando otras técnicas para la tipificación de cepas SARM, como la reacción en cadena de la polimerasa (176), o la degradación térmica de las bacterias y análisis mediante espectrometría de masas (83).

5. MEDIDAS PARA EL CONTROL DE BROTES POR SARM

En 1986, the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy (10) publicaron las primeras guías para el control de brotes de infección nosocomial por SARM.

Las medidas de control se basaban fundamentalmente en las precauciones higiénicas en el manejo de los pacientes, el aislamiento de los pacientes infectados/colonizados, y el control de portadores asintomáticos, fundamentalmente nasales, tanto entre el personal hospitalario como entre pacientes ingresados, separando a los trabajadores del cuidado de los pacientes mientras estén colonizados.

Las guías publicadas por estas mismas sociedades posteriormente en 1990, seguían en estas mismas líneas de actuación (11), con especificaciones mas detalladas.

El control de portadores se recomienda realizar ante un caso de infección en zonas críticas y dos o mas casos en zonas comunes. En la mayoría de los brotes descritos en Europa y EEUU se ha realizado control de portadores asintomáticos entre personal y pacientes (52, 54, 61, 104, 117, 143). Sin embargo, la realización conjunta junto con otras medidas y la falta de grupos control, hacen difícil una real evaluación de la eficacia de esta medida, que es utilizada fundamentalmente en base a los conocimientos que se tienen acerca del reservorio y modo de transmisión de *S.aureus*, muchos de ellos adquiridos en los antiguos brotes de infección nosocomial por *S.aureus* resistente a tetraciclina.

El control de portadores nasales entre el personal hospitalario se basa en que pueden actuar como transmisores, y a veces reservorio de la cepa epidémica (47, 89), y la colonización nasal puede dar lugar a la dispersión de un número importante de microorganismos al medio ambiente (36). Dado que se ha descrito que una particular cepa parece adaptarse a un particular huesped, y que el estado de portador puede depender de una interacción entre cepa y huesped (75, 218), parece necesario pensar en la posibilidad de recurrencias en el estado de portador en determinadas subpoblaciones, con el riesgo de que

esto ocurra entre el personal hospitalario y con cepas epidémicas de SARM.

6. COLONIZACION NASAL POR S.AUREUS

6.1. METODOS DE DETECCION

La detección de portadores asintomáticos de SARM supone un esfuerzo en los laboratorios de Microbiología para encontrar el medio mas rentable, desde el punto de vista coste/beneficio, ya que en grandes brotes habrá que realizar un gran número de muestras, que no se pueden retrasar en el tiempo, sino que es necesario hacer en el momento en que se detecta el caso índice.

Pueden utilizarse medios selectivos para *S.aureus*, y a partir de allí estudiar la sensibilidad a meticilina por métodos estandarizados, medios con oxacilina o meticilina incorporados para la detección de la meticilín - resistencia en la siembra directa, o medios líquidos de enriquecimiento con la intención de aumentar la sensibilidad diagnóstica (17, 47, 201).

Entre los medios selectivos para *S.aureus*, los mas utilizados son el ágar Baird-Parker y el ágar manitol sal.

El ágar Baird-Parker fue formulado originalmente por Baird-Parker en 1962 (12), modificando el medio de telurito y glicina de Zebovitz (226), al añadir piruvato sódico como estimulante selectivo del crecimiento y emulsión concentrada de yema de huevo como agente diagnóstico. Contiene litio y telurito potásico para suprimir el crecimiento de otros microorganismos. Inhibe el crecimiento de la mayoría de los organismos y no de *S.aureus*. Los pocos microorganismos que pueden crecer (*Staphylococcus saprophyticus* y algunas cepas de *Bacillus*) producen unas colonias diferentes a las de *S.aureus*. *S.aureus* produce las siguientes características diagnósticas : colonias negras (por el paso de

telurito a teluro), convexas, con un halo de aclaramiento del medio debido a la actividad proteolítica y con un halo opaco dentro de la zona clara, debido a la actividad lipasa.

El ágar manitol- sal (medio de Chapman), esta basado en una alta concentración en sal (7.5% de ClNa) que inhibe a la mayoría de los microorganismos y no a los estafilococos, y a la presencia de manitol y rojo de fenol como indicador. *S.aureus* fermenta el manitol y produce unas colonias amarillas.

Con la intención de adelantar el diagnóstico de SARM, se han utilizado medios con oxacilina o meticilina incorporados, de manera que a partir del crecimiento de colonias sospechosas de pertenecer al género *Staphylococcus*, se pueda realizar la prueba de la coagulasa y a las 24 horas de la siembra obtener el resultado (10, 11, 108, 109, 127, 201). Sin embargo, aunque hay datos contradictorios en la bibliografía, parece que inóculos pequeños de SARM, pueden ser inhibidos en estos medios con antibiótico (11).

Se recomienda la utilización de medios líquidos de enriquecimiento (caldo nutritivo) cuando se quiere aumentar la sensibilidad diagnóstica (11) y recoger inóculos pequeños de SARM, sin embargo, esto conlleva una duplicación tanto en el coste como en el trabajo a realizar, por lo que deberá valorarse su utilización en grandes brotes en los que se requiera muestrear a un número importante de personas.

6.2. TRATAMIENTO

6.2.1. ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS

Una vez detectados los portadores nasales, hay que disponer de un tratamiento eficaz que erradique el estado de portador, y que mantenga el aclaramiento el mayor tiempo posible.

Distintos regímenes terapéuticos tópicos y sistémicos han sido utilizados para el tratamiento de portadores nasales de *S.aureus*. En estudios con adecuado seguimiento, la recurrencia de *S.aureus* en fosas nasales ocurrió en el 63 al 100% de los sujetos después de tratamiento tópico con una variedad de antibióticos y antisépticos (212).

La dificultad de eliminar la colonización nasal por *S.aureus* con antisépticos tópicos es bien conocida (220).

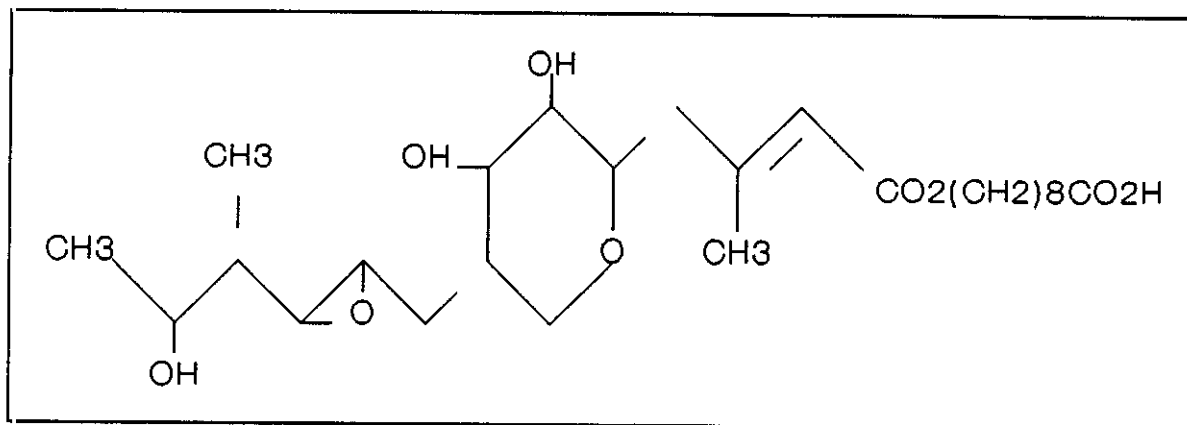
Antibióticos tópicos como vancomicina, gentamicina o bacitracina han sido eficaces a corto término (30, 220), pero ineficaces en períodos de 1-3 meses (30), y la posibilidad del desarrollo de resistencias ha sido demostrada en la práctica (220, 222). En cuanto a tratamientos sistémicos, se ha utilizado rifampicina en monoterapia, con éxito inicial pero con desarrollo rápido de resistencias (174, 225), o asociada a cloxacilina o cotrimoxazol con resultados variables (64, 165, 213). Ciprofloxacina, con o sin rifampicina y clindamicina han mostrado efectividad variable para eliminar la colonización nasal por *S.aureus* (135, 184, 185, 187). El ácido fusídico es activo in vitro frente a SARM y ha sido utilizado tópicamente en el tratamiento de la colonización nasal, en asociación con rifampicina o cotrimoxazol orales con buenos resultados (147).

6.2.2. MUPIROCIN

6.2.2.1. ESTRUCTURA

Mupirocin es un antibiótico tópico, producido por fermentación de *Pseudomonas fluorescens* NCIB 10586, cuya estructura química es completamente diferente a la de otros antimicrobianos (104, 215). El compuesto es el metabolito mayor producido un cultivo sumergido del microorganismo y fue llamado previamente ácido pseudomónico A. Tres sustancias químicamente

relacionadas, ácido pseudomónico B, C y D, aislados como metabolitos menores, muestran actividad del mismo orden o similar que mupirocín (215).



Estructura química de mupirocín

6.2.2.2. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Es activo *in vitro* principalmente frente a bacterias gram positivas, incluyendo *S.aureus*, *S.epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. Su espectro de actividad incluye cepas de *S.aureus* resistentes a meticilina causantes de brotes de infección nosocomial. El 90% de las cepas de *S.aureus* se inhiben por concentraciones menores de 0.12 mcg/ml. *Streptococcus faecalis* es relativamente resistente ($\text{CIM}_{90} = 32-64$ mcg/ml). Otras bacterias gram positivas, aerobias o anaerobias son moderadamente susceptibles o resistentes a mupirocín. La mayoría de las bacterias gram negativas son resistentes a mupirocín, con excepción de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Branhamella catarrhalis*, *Bordetella pertussis* y *Pasteurella multocida* ($\text{CIM} < 0.25$ mcg/ml). Mupirocín no ha demostrado actividad frente a *Clamidia trachomatis* ni actividad antifúngica, a excepción de una ligera actividad frente a *Cándida albicans*, pero sí es activo frente a especies de *Mycoplasma* (111, 210, 215).

La actividad de mupirocín se ve poco afectada por el medio utilizado en la determinación de la sensibilidad o por el tamaño del inóculo, aunque es mas activo a pH moderadamente ácido (215).

In vitro se une fuertemente a las proteínas del suero humano, (95%), y como consecuencia, su actividad se reduce en presencia de suero humano (215).

6.2.2.3. MECANISMO DE ACCION

Su modo de acción es predominantemente bacteriostático, habiendo diferencias del orden de 5 diluciones entre la mínima concentración inhibitoria y bactericida, pero a altas concentraciones, tal y como se consiguen en la administración tópica es bactericida (215).

Su mecanismo de acción es por inhibición de la síntesis proteica bacteriana mediante unión específica y reversible a la isoleucil-t-RNA sintetasa. Debido a este mecanismo de acción no muestra resistencia cruzada con ningún otro antibiótico. La resistencia a mupirocin puede ser inducida con dificultad in vitro y de manera escalonada, por lo que no parece fácil la aparición de resistencias in vivo (117).

6.2.2.4. FARMACOCINETICA

Farmacocinéticamente, después de la aplicación tópica, mupirocín muestra una mínima absorción sistémica (menos de 1%), sin aparecer concentraciones detectables en heces u orina. La penetración en la epidermis y dermis es favorecida por lesiones cutáneas o por oclusión. Mupirocín es débilmente metabolizado en la piel a su metabolito microbiológicamente inactivo (210).

Estudios farmacocinéticos en animales y el hombre han demostrado que mupirocín es bien absorbido después de la

administración oral, pero que las concentraciones séricas, tanto después de la administración oral como parenteral, son de muy corta vida media como resultado de la extensiva degradación del compuesto a metabolitos inactivos (215). Debido a su rápida metabolización sistémica y su muy corta vida media sérica solo puede ser utilizado tópicamente.

6.2.2.5. UTILIDAD CLINICA

TRATAMIENTO DE INFECCIONES CUTANEAS

El impétigo y la forunculosis son las infecciones primarias estafilocócicas mas comunes. Infecciones secundarias de lesiones tales como eczema son también comunes.

Mupirocín en pomada al 2% en base de polietilén glicol, ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de las infecciones cutáneas estafilocócicas (111), y en estudios comparativos con otros antimicrobianos, ha demostrado una eficacia clínica y bacteriológica similar a ácido fusídico tópico (81, 216), y mayor que eritromicina, cloxacilina o ampicilina orales (7, 84, 86, 211). Ha sido utilizado también en el tratamiento de infecciones en quemados (166, 167, 188).

Ha sido también utilizado como sal cálcica al 2% en base de parafina, para reducir la colonización del catéter venoso central para la prevención de bacteriemias (93).

TRATAMIENTO DE LA COLONIZACION NASAL POR S.AUREUS

Este antimicrobiano tópico, al 2% en base de parafina con éster glicerínico, se utiliza en aplicación intranasal para el tratamiento de la colonización por *S.aureus*. La formulación para aplicación intranasal es en una base diferente a la pomada para aplicación cutánea, ya que la primera vez que se evaluó para este

uso, se produjeron efectos adversos locales en relación con la base de polietilén glicol (51).

Diferentes estudios han sido llevados a cabo en diferentes países para determinar la eficacia de este antimicrobiano en la erradicación de la colonización nasal por *S.aureus* (38, 59, 95, 158, 161), con porcentajes de erradicación al finalizar el tratamiento que oscilan entre el 68 y el 100% (60, 95), y con porcentajes de erradicación a las cuatro semanas de seguimiento entre el 60 y el 84% (60).

Este antimicrobiano es recomendado para el tratamiento de portadores nasales de SARM en las guías para el control de brotes por este microorganismo publicadas por the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy (10, 11). Ha sido utilizado en diferentes pautas en gran parte de los brotes de infección nosocomial descritos en Europa, fundamentalmente en el Reino Unido (16, 52, 54, 61, 77, 92, 161, 195).

Mupirocín en administración intranasal ha sido también utilizado en profilaxis de infección de la herida quirúrgica por *S.aureus* (106), profilaxis de infecciones por este microorganismo en pacientes sometidos a hemodiálisis (24), brotes de síndrome de piel escaldada, para el tratamiento del personal hospitalario portador de *S.aureus* (32), profilaxis de la infección estafilocócica familiar (112), y en la disminución de la colonización nasal por *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina en enfermeras de una UCI, como fuente de colonización por estos microorganismos para los pacientes (219).

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS



A finales de 1989, aparecieron los primeros casos de SARM en el Hospital Universitario S. Carlos, iniciándose un brote de infección nosocomial por este microorganismo.

Ante esta situación, las guías para el control de brotes por SARM publicadas en 1986 por the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy (10) que recogían la experiencia inglesa sobre el tema, constituían la mejor referencia sobre las medidas a tomar.

Una de las medidas recomendada en estas guías, era la detección y tratamiento de portadores asintomáticos, debiéndose realizar screening de pacientes y personal de las áreas donde se situaran los casos índice, y el tratamiento de los portadores nasales con mupirocín, retirando a los trabajadores del cuidado del paciente mientras permanecieran colonizados.

Esta medida, basada en los conocimientos epidemiológicos de la infección por *S.aureus*, no estaba totalmente contrastada al no poderse demostrar su eficacia por medio de estudios controlados. Por otra parte, nos planteamos qué metodología microbiológica debía emplearse para la detección de portadores asintomáticos, ya que se maneja un número importante de muestras, precisando un método sencillo, con un índice coste/beneficio adecuado.

Mupirocín no había sido comercializado en nuestro país, y era necesario comprobar su eficacia y conocer unos aspectos de gran importancia para su utilización, como son las dosis de tratamiento necesarias previo a la reincorporación del personal colonizado al cuidado de los pacientes, los controles postnegativización que deben realizarse, la eficacia a largo término del tratamiento y la posibilidad de aparición de resistencias a este antimicrobiano tras su utilización.

La ausencia de experiencia en aquel momento sobre este tema y las dudas planteadas, nos llevó a proponer los siguientes objetivos para esta tesis doctoral :

- 1- Evaluar la eficacia en brotes de infección hospitalaria por SARM, de la detección y tratamiento de portadores asintomáticos, en pacientes y personal hospitalario.
- 2- Determinar la técnica microbiológica mas eficaz para la detección de portadores nasales de *S.aureus*.
- 3- Demostrar la eficacia clínica y microbiológica, y la tolerancia, de mupirocín en administración intranasal en la erradicación de la colonización nasal por *S.aureus*. Estudiar la persistencia del efecto en el tiempo.

MATERIAL Y METODOS



1. LUGAR DONDE SE DESARROLLA EL ESTUDIO

El estudio ha sido realizado en el Hospital Universitario San Carlos, hospital docente de 1500 camas que cubre a una población de 600000 personas del área 7 de Madrid.

2. DESCRIPCION DEL BROTE DE INFECCION HOSPITALARIA POR SARM

En Noviembre de 1989 se inició un brote de infección hospitalaria por SARM, que llegó a afectar a 990 pacientes hasta Octubre de 1992, confirmándose la adquisición nosocomial en 928 pacientes, de los que 418 fueron infectados por SARM, 107 colonizados en muestras clínicas y 403 portadores asintomáticos (nasales, faringeos o cutáneos), de los que 58 llegaron a infectarse (44).

Para definir los casos de infección se siguieron los criterios estándar de infección según las definiciones de los CDC (74). Paciente portadores asintomáticos se consideraron aquellos en los que se aisló SARM en cultivos de fosas nasales, exudado faringeo, periné, ingle y/o axila. Colonizados fueron aquellos pacientes no infectados en los que se aisló SARM en localizaciones distintas a las definidas para portador asintomático (muestras clínicas, principalmente escaras, heridas o esputos).

En los 476 pacientes infectados se produjeron un total de 580 infecciones, siendo las mas frecuentes (58% del total), las de herida quirúrgica, urinarias y cutáneas. La mortalidad atribuida a la infección por SARM en los 476 pacientes infectados fue del 13% (44).

El porcentaje de resistencia a meticilina llegó a cifras del 56% de todos los aislados de S.aureus del hospital (1).

Las características de la cepa epidémica fueron (1, 44) :

- Antibiopificación : Sensible a vancomicina, trimetoprim, cloranfenicol, fosfomicina y a. fusídico y resistente a penicilina, amoxicilina-clavulánico, gentamicina, eritromicina y ciprofloxacina.

Fagotipificación : No tipable con fagos estándares y fagotipo 29/77/84/932 usando fagos experimentales.

3. MEDIDAS DESARROLLADAS PARA EL CONTROL DEL BROTE

Inicialmente, para el control del brote, se estudiaba la colonización nasal y cutánea en los pacientes infectados, tratando a los colonizados con mupirocin nasal 3 veces/día durante cinco a siete días, en función de la densidad de la colonización, y antisépticos cutáneos (lavado con jabón con clorhexidina), y se instauraron una serie de medidas higiénicas de control en el personal al cuidado de los pacientes, como uso de guantes, delantal, y lavado de manos con jabón antiséptico.

A partir de Noviembre de 1990 se inició un programa activo (10, 11) que incluía :

1. Detección de portadores asintomáticos entre personal y pacientes que se realizaba ante un caso de infección por SARM en zonas críticas, y ante dos o mas casos en zonas generales. Las muestras que se realizaban eran :

Pacientes : muestras de fosas nasales, faringe, axila, ingle y periné.

Personal sanitario : muestras de fosas nasales y si hubiera lesiones cutáneas se realizaba también muestra de las mismas.

2. Actuación sobre la fuente/reservorio :

- Tratamiento de los portadores con mupirocín intranasal, 3 veces al día durante 5-7 días (en función de la densidad de la

colonización), y lavados de la piel y boca con antisépticos : Lavado diario con jabón con clorhexidina y enjuagues bucales con antiséptico de clorhexidina.

- Aislamiento de los pacientes infectados o colonizados
- Retirada del personal portador asintomático del contacto con los pacientes durante las primeras 24 horas de tratamiento

3. Actuación sobre el mecanismo de transmisión mediante medidas higiénicas siempre que la atención al paciente lo requiera :

- Lavado de manos del personal con jabón antiséptico
- Uso de guantes y delantales plásticos

4. Seguimiento mediante controles microbiológicos de pacientes y personal con SARM hasta su negativización :

Pacientes : Tres muestras consecutivas negativas al finalizar el tratamiento para ser desaislado. Seguimiento posterior mensual mientras permanezca ingresado por si hubiera recolonización.

Personal : Dos muestras consecutivas, (de exudado nasal y faringeo) a la semana de finalizar el tratamiento y dos semanas después.

4. EVALUACION DE LA EFICACIA DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

4.1. RECOGIDA DE DATOS

Los casos se detectaron a partir de un sistema de vigilancia epidemiológica cuyas fuentes de datos fueron :

1. Informes diarios del Servicio de Microbiología Clínica
2. Programa de screening activo para identificación de portadores asintomáticos
3. Historia clínica de los pacientes

4.2. METODO ESTADISTICO

Se definieron como casos los pacientes con uno o mas aislamientos de SARM en cualquier localización. El riesgo se estimó mediante las incidencias acumuladas mensuales de infección por SARM, expresadas en tanto por mil. La incidencia mensual acumulada de infección por SARM se definió como la proporción de casos nuevos de infección en el mes por el número de pacientes ingresados en ese mes (sujetos expuestos al riesgo). La comparación de incidencias y frecuencias se contrasta mediante el test de comparación de proporciones. La media de días de estancia se comparó mediante el test de la t de Student.

Considerando la incidencia mensual (variable dependiente y) como una serie temporal, se realizó un ajuste lineal de regresión mediante el método de mínimos cuadrados para ambos períodos del control. La variable independiente fue el tiempo (x). Se evaluó la significación de las pendientes de las rectas ajustadas (intervalo de confianza del 95%), coeficientes de correlación y análisis de la varianza de los ajustes (123).

5. PAPEL DEL PERSONAL SANITARIO EN LA TRANSMISION DEL BROTE

5.1. ACTUACION EN EL PERSONAL HOSPITALARIO

Dentro del programa de screening activo de portadores asintomáticos de SARM para el control del brote descrito anteriormente, a partir de Noviembre de 1990, se realizó cultivo de fosas nasales y lesiones cutáneas si las hubiera al personal hospitalario en contacto con pacientes infectados/colonizados por SARM, ante un caso de infección/colonización en zonas críticas y dos o mas casos en zonas generales.

En el screening, se recogían los siguientes datos del trabajador :

- Nombre
- Sexo
- Profesión/Puesto de trabajo
- Area hospitalaria a la que pertenece

Los trabajadores que resultaron portadores de SARM fueron tratados según el protocolo (mupirocín intranasal tres veces día/5-7 días y lavado diario con jabón con clorhexidina) y se les realizó seguimiento mediante dos controles microbiológicos a la semana y a las dos semanas de finalizar el tratamiento, realizando en estos controles cultivo de fosas nasales y de faringe (por la posibilidad de persistencia de la colonización en esta localización).

5.2. SCREENING POSTNEGATIVIZACION

Con objeto de determinar si estos dos controles de seguimiento son suficientes para considerar la negativización del sujeto, en Enero de 1992 se citaron para repetir el screening a todos los trabajadores que durante el año anterior habían resultado portadores de SARM en algún momento, y que habían sido tratados y negativizados en los dos controles postratamiento.

Como grupo control se realizó screening a un número igual de trabajadores seleccionados aleatoriamente, de entre los que acuden a la consulta de Salud Laboral.

5.3. ANALISIS DE LOS DATOS

Se analiza la prevalencia de portadores nasales en personal sanitario, su distribución por sexo, profesión, y área de trabajo, y su distribución temporal.

Se compara la prevalencia de portadores en personal

sanitario en los tres grupos definidos :

- GRUPO I : Población en contacto con pacientes SARM : Personal hospitalario que es citado para screening por indicación epidemiológica (contacto con pacientes SARM), desde el inicio del screening activo (Noviembre de 1990) hasta la finalización del año 91 (se realizaron 2303 controles de exudado nasal).

- GRUPO II : Personal hospitalario que había resultado portador de SARM en alguna ocasión durante el año 91, (72 trabajadores), que había sido tratado y negativizado, y que se cita nuevamente para realizar screening en Enero de 1992, sin que en ese momento haya indicación epidemiológica (no contacto con pacientes SARM). Acuden 47 trabajadores a la citación.

- GRUPO III : Población control : Personal hospitalario que no ha sido nunca portador de SARM y que no tiene indicación epidemiológica de screening (no contacto con pacientes SARM). Se selecciona aleatoriamente una muestra de 47 empleados de entre los que acuden a la consulta de Salud Laboral, en las mismas fechas que se realiza el screening al grupo II.

Como método estadístico se utiliza la prueba de chi cuadrado.

6. METODO MICROBIOLOGICO PARA EL SCREENING DE PORTADORES ASINTOMATICOS

6.1. TOMA DE LAS MUESTRAS

Las muestras procedentes del screening activo de los pacientes eran tomadas por el personal de enfermería de la planta, con hisopos estériles con medio de transporte, enviándose a continuación al laboratorio del S. de Medicina Preventiva donde eran procesadas en la misma mañana. Las muestras del personal hospitalario eran tomadas en el propio laboratorio, por personal

del mismo, con un hisopo humedecido en suero salino, y sembradas inmediatamente a su toma.

6.2. MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo utilizados inicialmente fueron ágar Baird Parker (UNIPATH) y ágar MRSA (Mueller Hinton con 4% de ClNa y 0.6 mg/100 ml de oxacilina) (BBL) para detección rápida de SARM en la siembra directa.

6.3. DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD A LA METICILINA

La sensibilidad a la meticilina se determinó de forma estandarizada y controlada por el método de difusión en ágar Mueller Hinton con disco de oxacilina de 1 mcg, realizándose la incubación a 35°C durante 24 horas (177).

6.4. FAGOTIPIFICACION DE LAS CEPAS

Setenta y dos aislamientos procedentes del screening de personal sanitario y 188 del screening de pacientes fueron enviados al Instituto Carlos III de Madrid para su fagotipificación por métodos estandarizados (20). La fagotipificación de seleccionados aislamientos con fagos experimentales fue llevada a cabo en el Laboratorio de Referencia de Estafilococos, de the Central Public Health Laboratory de Londres (44).

6.5. ESTUDIO COMPARATIVO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO PARA DETECCION DE PORTADORES DE S.AUREUS

Paralelamente al método microbiológico seguido, con objeto de determinar la metodología microbiológica mas eficaz para utilizar en screening de portadores, se diseñó un estudio comparativo de cuatro medios de cultivo, que se describe a

continuación :

6.5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se sembraron 441 muestras de exudado nasal procedentes del screening de portadores en los cuatro medios de cultivo :

- **Dos medios selectivos de *S.aureus*** : Agar Baird Parker (BP), (Unipath), y ágar manitol sal (MN) (Biomerieux). La composición por litro de ambos medios es la siguiente :

- **Agar Baird Parker :**

Triptona	10g
Lab-Lemco en polvo	5g
Extracto de levadura	1g
Piruvato de sodio	10g
Glicina	12g
Cloruro de litio	5g
Agar	20g
Emulsión de yema de huevo-telurito	50ml

- **Agar manitol sal :**

Lab-Lemco en polvo	1g
Peptona	10g
Manitol	10g
Cloruro de sodio	75g
Rojo de fenol	0.025g
Agar	15g

Aspecto de las colonias : En ágar Baird Parker, las colonias de *S.aureus*, a las horas de incubación son negras, convexas y brillantes, de 1 a 1,5 mm de diámetro a las 24 horas de incubación, rodeadas de una zona de aclaramiento de 2 a 5 mm. En ocasiones tienen también un borde intacto blanco y estrecho, entre la colonia y la zona de aclaramiento. A las 48 horas de

incubación las colonias y la zona de aclaramiento son de mayor tamaño. Algunas cepas necesitan 36 horas para producir la zona de aclaramiento. En ágar manitol sal, *S.aureus* produce colonias amarillas brillantes.

- **Un medio con antibiótico incorporado** para tratar de detectar la resistencia a la meticilina en la siembra directa : **Agar MRSA** (BBL). Composición : Agar Mueller Hinton con 4% de ClNa y 0.6 mg/100 ml de oxacilina)

- **Un caldo nutritivo**, como enriquecimiento de la muestra : **Caldo corazón cerebro** (BHI) (Unipath).

Composición por litro :

Infusión de cerebro de ternera	12.5g
Infusión de corazón de vaca	5g
Peptona proteosa	10g
Dextrosa	2g
Cloruro de sodio	5g
Fosfato disódico	2.5g

La incubación se mantuvo 24 horas (ágar MRSA y BHI) y 48 horas (BP y MN), a 35°C.

Cuando se obtuvo crecimiento de colonias sospechosas en los medios selectivos de *S.aureus* (BP y MN), se confirmó la identificación por aislamiento en ágar sangre y prueba de la desoxirribonucleasa y/o coagulasa, y se determinó la sensibilidad a oxacilina por el método de difusión.

Cuando se obtuvo crecimiento en ágar MRSA, se realizaba tinción de Gram y catalasa, haciéndose la prueba de la coagulasa a los cocos gram positivos catalasa positivos. Este medio se utilizó como screening rápido, pudiéndose obtener el resultado en 24 horas. No obstante, se confirmaba el diagnóstico por

aislamiento en ágar sangre, identificación y sensibilidad a oxacilina por el método de difusión.

A las 24 horas de incubación se dieron pases del BHI a los medios selectivos de *S.aureus*, procediéndose a partir del crecimiento en ellos a la identificación y detección de la sensibilidad a oxacilina.

6.5.2. EVALUACION MICROBIOLOGICA

Se consideró cultivo positivo de *S.aureus* sensible a oxacilina (SASM) o SARM cuando se aislaron estos microorganismos en alguno de los medios utilizados. Se consideró falso positivo en BP o MN cuando, creciendo colonias características de *S.aureus* en estos medios, no lo fueron cuando se aislaron e identificaron. Se consideró falso positivo en ágar MRSA, cuando el crecimiento obtenido, siendo cocos gram positivos, catalasa positiva y coagulasa positiva, no fue, una vez aisladas las colonias y estudiadas SARM. Se consideró falso negativo en BP o MN, cuando existiendo *S.aureus* en la muestra (detectado por alguno de los medios de cultivo), no crecieron colonias características de *S.aureus* en esos medios. se consideró falso negativo en ágar MRSA cuando existiendo SARM en la muestra, no creció en este medio.

6.5.3. METODO ESTADISTICO

Se calcularon las siguientes características operativas de los distintos medios de cultivo : sensibilidad, especificidad, y sus intervalos de confianza, el valor predictivo positivo (VP+) y negativo (VP-), y los cocientes de probabilidades (LR+ y LR-) (153). El análisis se efectuó mediante el test exacto de Fisher y la prueba de MacNemar para datos pareados.

7. MUPIROCIN EN PORTADORES NASALES DE SARM

7.1. DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE LOS AISLAMIENTOS

Se determinó la sensibilidad a mupirocín en todos los aislamientos de SARM por la técnica de difusión, siguiendo el método de Kiby-Bauer. En los aislamientos que mostraron resistencia por este método (halo de inhibición < 17 mm, con disco de 5 mcg.), se determinó la mínima concentración inhibitoria por el método de dilución en medio sólido, siguiendo las recomendaciones de la NCCLS (139), con un "breakpoint" de 4 mcg/ml.

7.2. EVALUACION DE LA EFICACIA

La eficacia de mupirocín nasal en el tratamiento de portadores nasales de la cepa epidémica de SARM causante del brote hospitalario se evaluó mediante el análisis de los datos obtenidos del sistema de seguimiento de portadores, pacientes o personal, descrito anteriormente como medida instaurada para el control del brote. Se aplicó la prueba del chi cuadrado o test exacto de Fisher para el análisis estadístico.

8. ENSAYO CLINICO, FASE III, RANDOMIZADO, DOBLE CIEGO, DE MUPIROCIN POMADA COMPARADO CON UN GRUPO PLACEBO

Ante la imposibilidad, por razones éticas, de realizar un ensayo controlado en portadores nasales de la cepa epidémica de SARM, se diseñó un ensayo clínico, fase III, randomizado, doble ciego, de mupirocín pomada comparado con un grupo placebo, que se realizó en personal hospitalario portador nasal de *S.aureus*, y cuya metodología describimos a continuación :

8.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y MEDICACIÓN

Ensayo clínico randomizado, doble ciego, comparando a un grupo de sujetos que reciben pomada de mupirocín cálcico al 2% en base de parafina, aplicada intranasal, dos veces al día, durante 5 días consecutivos, y un grupo que recibe placebo. La pomada placebo contenía solo la base de parafina. El ensayo fue aprobado por la Comisión de Ensayos Clínicos y el Comité Etico del Hospital Universitario S. Carlos (HUSC).

La población diana fue el personal laboral hospitalario que acudía a la consulta de Salud Laboral del Servicio de Medicina Preventiva.

Criterios de inclusión : hombres y mujeres de 18 a 65 años, personal del HUSC que dieron su consentimiento informado por escrito para participar en este estudio, y que presentaron dos cultivos positivos con >10 unidades formadoras de colonias (UFC) de *S.aureus* por placa en un período de 7 días (portadores estables o persistentes de *S.aureus*, y que fueron capaces de cumplir con los requerimientos del protocolo.

Se diseñó un cuaderno de recogida de datos donde se anotaba toda la información de cada sujeto.

Se recogió información sobre cualquier medicación recibida por el sujeto antes del tratamiento, durante el tratamiento y durante el seguimiento.

Los sujetos incluidos en el ensayo fueron instruidos verbalmente y por escrito para aplicar una pequeña cantidad de pomada desde el tubo de 3 g. en la parte anterior de ambas fosas nasales, dos veces al día, por la mañana y por la noche, durante 5 días consecutivos. Se aplicaba con la punta del dedo una pequeña cantidad de pomada en los orificios externos de la cavidad nasal, presionando posteriormente las paredes entre sí para extender la pomada depositada en su interior.

Los participantes en el estudio recogían en una ficha, diseñada al efecto, el día y la hora a la que se aplicaban la pomada. Al finalizar el tratamiento debían devolver el tubo con el resto de pomada. Se consideró que había existido cumplimiento del tratamiento si se habían aplicado al menos el 80% de las dosis durante los 5 días de tratamiento.

Criterios de exclusión :

- mujeres embarazadas o en período de lactancia
- sujetos que en el momento de entrar en el ensayo padecieran un proceso catarral agudo
- Sujetos con historia de rinitis alérgica estacional o presencia de pólipos nasales en el mes anterior al comienzo del estudio
- Sujetos con conocida o sospechada hipersensibilidad a alguno de los componentes de la pomada
- Sujetos que estuvieran en tratamiento antimicrobiano
- Sujetos que estuvieran utilizando cualquier tratamiento tópico intranasal
- Sujetos que hubieran recibido mupirocín tópico o intranasal en los 6 meses previos al comienzo del ensayo.

Los resultados finales clínicos y microbiológicos fueron determinados y evaluados de forma ciega.

8.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Resultado previamente publicados (38), mostraron diferencias en la razón de respuesta de 0.45 entre el grupo tratado con mupirocín y el de placebo, en el 5% de nivel de significancia. Para un poder del 80%, se calcula el tamaño necesario de muestra de 13 sujetos por grupo de estudio. Asumiendo un 20% de colonización inestable y un 50% de pérdida durante el seguimiento, incrementamos la muestra con estos porcentajes hasta un total de 34 sujetos por grupo de estudio. La randomización fue

hecha en bloques de cuatro (152).

8.3. TECNICAS MICROBIOLOGICAS

8.3.1. MUESTRAS MICROBIOLOGICAS

La toma de muestras fue llevada a cabo por el personal del laboratorio de Medicina Preventiva con un hisopo humedecido en suero salino, tomando la muestra de ambas fosas nasales. Se realizaron tomas de exudado nasal para estudio microbiológico en las siguientes visitas :

- Muestra 1. Primera toma realizada en sujetos de la población diana, para selección de portadores con cultivo cuantitativo de >10 UFC/placa.
- Muestra 2. Una semana después, en el sujeto que resultó portador y dio su consentimiento por escrito para ser incluido en el ensayo. Esta muestra se toma inmediatamente antes de comenzar el tratamiento.
- Muestra 3. Después de 3 dosis de tratamiento
- Muestra 4. después de 5 dosis de tratamiento
- Muestra 5. Al día siguiente de completar el tratamiento (tiempo 0 de seguimiento).
- Muestra 6. Al tercer día (± 1) de seguimiento.
- Muestras 7 a 11. A los 7, 14, 21, 28 y 35 días (± 3) de seguimiento.
- Muestras 12 a 16. A los 60, 90, 120, 150 y 180 días (± 7) de seguimiento.

Ante la aparición de un cultivo positivo para *S.aureus* en la muestra 5 o siguientes, el sujeto era considerado haber finalizado el estudio y su ficha quedaba archivada para su evaluación.

Los sujetos que perdieron dos visitas consecutivas o no, a partir de la muestra 7, fueron también considerados evaluables.

Si perdían una tercera visita, se les consideraba finalizados y eran evaluados hasta el momento en que se había podido realizar el seguimiento.

8.3.2. MEDIOS DE CULTIVO

La siembra se realizó inmediatamente a la toma de la muestra, en medio selectivo para *S.aureus*, ágar Baird-Parker (Unipath) y en un medio líquido (Brain Heart Infusion, Difco), que se utilizó como enriquecimiento de la muestra. Las muestras 3, 4 y 5, realizadas durante o inmediatamente después del tratamiento con mupirocín, fueron sembradas también en ágar con 0.4% de charcoal (Unipath), con objeto de evitar cualquier posible inhibición del crecimiento de *S.aureus* debido a los residuos de mupirocín en la muestra (14). Las placas de ágar Baird-Parker y charcoal fueron incubadas 48 horas a 35°C. El caldo de enriquecimiento se incubó 24 horas a 35°C, subcultivándose a continuación a ágar Baird Parker las muestras 1, 2, 6 y sucesivas, y a ágar Baird Parker y ágar charcoal las muestras 3, 4 y 5.

8.3.3. IDENTIFICACION DE LOS AISLAMIENTOS

Los aislamientos se identificaron por la producción de lecitinasa y/o lipasa en medio de Baird-Parker, confirmándose por la producción de desoxirribonucleasa y coagulasa tras su aislamiento en ágar sangre. Cuando la identificación fue a partir del ágar charcoal, la identificación se realizó por las pruebas de producción de desoxirribonucleasa y coagulasa. Todas las cepas aisladas se congelaron en leche descremada estéril (Difco), para su posterior fagotipificación y antibiotipificación.

8.3.4. VALORACION MICROBIOLOGICA

Los resultados se informaron semicuantitativamente por

cruces, en una escala discreta de 1 a 4 cruces, según el número de UFC crecidas en la placa :

- + : <10 UFC/placa, o crecimiento solo en subcultivo
- ++ : 10 - 50 UFC/placa
- +++ : 50 - 200 UFC/placa
- ++++ : >200 UFC/placa

8.3.5. ANTIBIOTIPIFICACION

Se realizó mediante antibiograma de difusión en medio sólido, según el método de Kirby-Bauer, con los siguientes antibióticos : Penicilina, Oxacilina, Eritromicina, Gentamicina, Tetraciclina, Cloranfenicol, Vancomicina, Cotrimoxazol, Rifampicina y Norfloxacin. Se siguieron las recomendaciones y criterios de sensibilidad de la NCCLS (138). Como control se utilizó la cepa de *S.aureus* ATCC 25923. La sensibilidad a mupirocín se estudió en todos los aislamientos por difusión en medio sólido utilizando discos de 5 mcg (Unipath), y determinando la mínima concentración inhibitoria por dilución en medio sólido, utilizando tabletas de sustancia valorada de mupirocín (sal de litio), proporcionadas por el laboratorio fabricante, y siguiendo las recomendaciones del NCCLS (139), con un "breakpoint" de susceptibilidad de 4 mcg/ml.

8.3.6. FAGOTIPIFICACION

La fagotipificación se llevó a cabo en el Centro Nacional de Referencia para la fagotipia de *S.aureus*, por métodos estandarizados. Los aislamientos se ensayaron al RTD (routine test dilution) y 100 X RTD (20) frente a los fagos internacionales. Las cepas no tipables (NT), fueron estudiadas por fagotipia inversa y fagotipia después de tratamiento con calor (206, 207).

8.4. CRITERIOS PARA EVALUAR LA EFICACIA CLINICA Y MICROBIOLOGICA

8.4.1. EFICACIA DURANTE EL TRATAMIENTO

El informe semicuantitativo de la variable cualitativa ordinal del número de colonias de *S.aureus*, se utiliza como evaluación de la respuesta a las primeras dosis de tratamiento (muestras 2 a 5).

8.4.2. EFICACIA POSTRATAMIENTO

Los sujetos del estudio fueron catalogados dentro de una variable de respuesta dicotómica :

- Respuesta positiva : eliminación del estado de portador después del tratamiento (muestra 5)
- Respuesta negativa : persistencia del estado de portador después del tratamiento (muestra 5).

8.4.3. EVALUACION DURANTE EL SEGUIMIENTO

Los sujetos que respondieron al tratamiento (muestra 5 negativa, erradicación de la colonización nasal), y posteriormente volvieron a ser colonizados durante el seguimiento, fueron clasificados según los siguientes criterios:

- **Reinfección** : Aparición de una cepa de *S.aureus* distinta a la aislada en el cultivo inicial.

- **Recidiva** : Aparición de la misma cepa aislada inicialmente.

- **Recolonización** : Recidivas mas reinfecciones.

La diferenciación entre recidivas y reinfecciones fue hecha en base a la comparación de los resultados de la antibiología y la

fagotipia entre los aislamientos de la muestras pretratamiento y de la muestra positiva que supone la recolonización (muestra hasta la que el sujeto es seguido). Desde el punto de vista epidemiológico, se consideran fracasos los casos de persistencia postratamiento y de recolonización durante el seguimiento. Desde el punto de vista bacteriológico, se consideran fracasos los casos de persistencia postratamiento y de recidivas durante el seguimiento.

8.5. EVALUACION DE LAS REACCIONES ADVERSAS

En cada visita, todos los acontecimientos adversos observados por el investigador o comunicados por el participante espontáneamente o como respuesta a pregunta directa, eran evaluados y anotados en la sección correspondiente del cuaderno de recogida de datos.

Se establece tipo de efecto, tiempo de aparición desde el comienzo del tratamiento, duración e intensidad del efecto y relación con el tratamiento en estudio. Se tomó nota de la sintomatología existente antes de iniciar el tratamiento, (eventos basales) con el fin de recoger suficiente información para evaluar las respuestas posteriores. Todos los eventos basales fueron anotados en el cuaderno de recogida de datos.

La intensidad de la reacción se evaluó :

- Leve : Reacción fácilmente tolerable por el sujeto causando una mínima molestia y no interfiriendo en su actividad diaria.

- Moderada : Reacción de suficiente gravedad para interferir la actividad diaria.

- Severa : Reacción incapacitante y que no permite la actividad normal diaria y/o requiere una intervención terapéutica como es la prescripción de drogas, hospitalización o prolongación de la estancia hospitalaria.

8.6. EVALUACION ESTADISTICA

La variable de respuesta dicotómica se analiza mediante el test chi cuadrado, siempre que la tabla de contingencia no presente el 25% de casillas <5 , en este caso se utiliza el test exacto de Fisher, testando la hipótesis nula de que el fármaco y el placebo tienen la misma eficacia.

Los datos que figuran en los cuadernos de recogida de datos de cada sujeto, se introdujeron en un ordenador utilizando un programa Sigma versión 1989 para realizar tanto la estadística descriptiva de las variables cualitativas y cuantitativas (media, desviación estándar y rango), como la estadística inferencial mediante los test de comparación chi cuadrado, Fisher para el estudio cualitativo y para el cuantitativo el test de la "t" de Student, previo estudio de la homogeneidad de la varianza mediante la F de Snedecor. Se utiliza como criterio de rechazo de la hipótesis nula, en todos los tests, una $p < 0.05$.

Para el estudio semicuantitativo de la densidad de colonias de *S. aureus* durante el tratamiento se utiliza el test de Friedman y el análisis de supervivencia se realiza con el test de Kaplan-Meier, utilizándose el test de Mantel-Haenszel de contraste bilateral para comparar las curvas resultantes. Se realiza un ajuste lineal mediante el método de los mínimos cuadrados para los porcentajes acumulados de la valoración de la eficacia durante los tiempos de seguimiento establecidos en el protocolo. Se calculan los coeficientes de correlación y la significación de la pendiente (6).

RESULTADOS



1. EFICACIA DEL PROGRAMA DE CONTROL DEL BROTE DE INFECCION HOSPITALARIA POR SARM

La eficacia del programa de control se reflejó en la reducción de la incidencia acumulada de infección por SARM (figura 1) que descendió significativamente desde 17 por 1000 ingresos en Noviembre de 1990 a 7 por 1000 ingresos en diciembre de 1991, 3.9 por 1000 ingresos en Octubre de 1992, y < 3 por mil ingresos en Marzo de 1993 ($p < 0.001$); prueba de chi cuadrado).

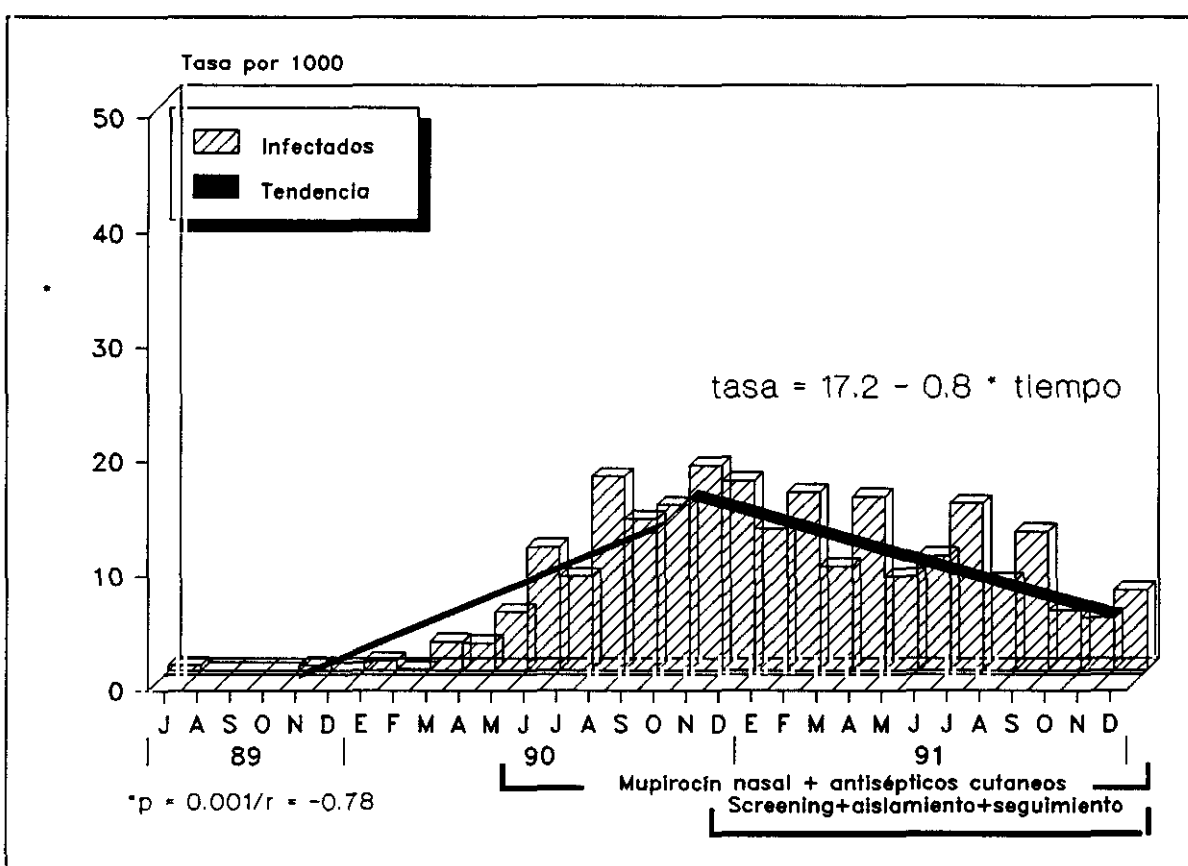


Figura 1. Infecciones por SARM. Curva epidémica

La tendencia de la incidencia de la infección por SARM se evaluó mediante la estimación de la pendiente de una recta ajustada $y = 17.2 - 0.8 (1.18 - 0.44) x$. La significación de la pendiente fue $p = 0.001$ y el coeficiente de correlación de -0.78 . En la figura 1 se muestra que la tendencia previa se ha invertido

en Noviembre de 1990 cuando, además de mupirocín intranasal a los pacientes infectados con colonización nasal, se instauró el programa activo de screening de portadores asintomáticos para definir completamente el brote.

En la figura 2 se presenta la curva epidémica mostrando la incidencia de infección y colonización nasal y colonización en otros lugares por SARM. La incidencia acumulada de portadores nasales en Noviembre de 1990, en el inicio del screening activo de portadores asintomáticos fue del 20.4 por 1000 admisiones, reduciéndose a 3.5 por 1000 admisiones en Octubre de 1992.

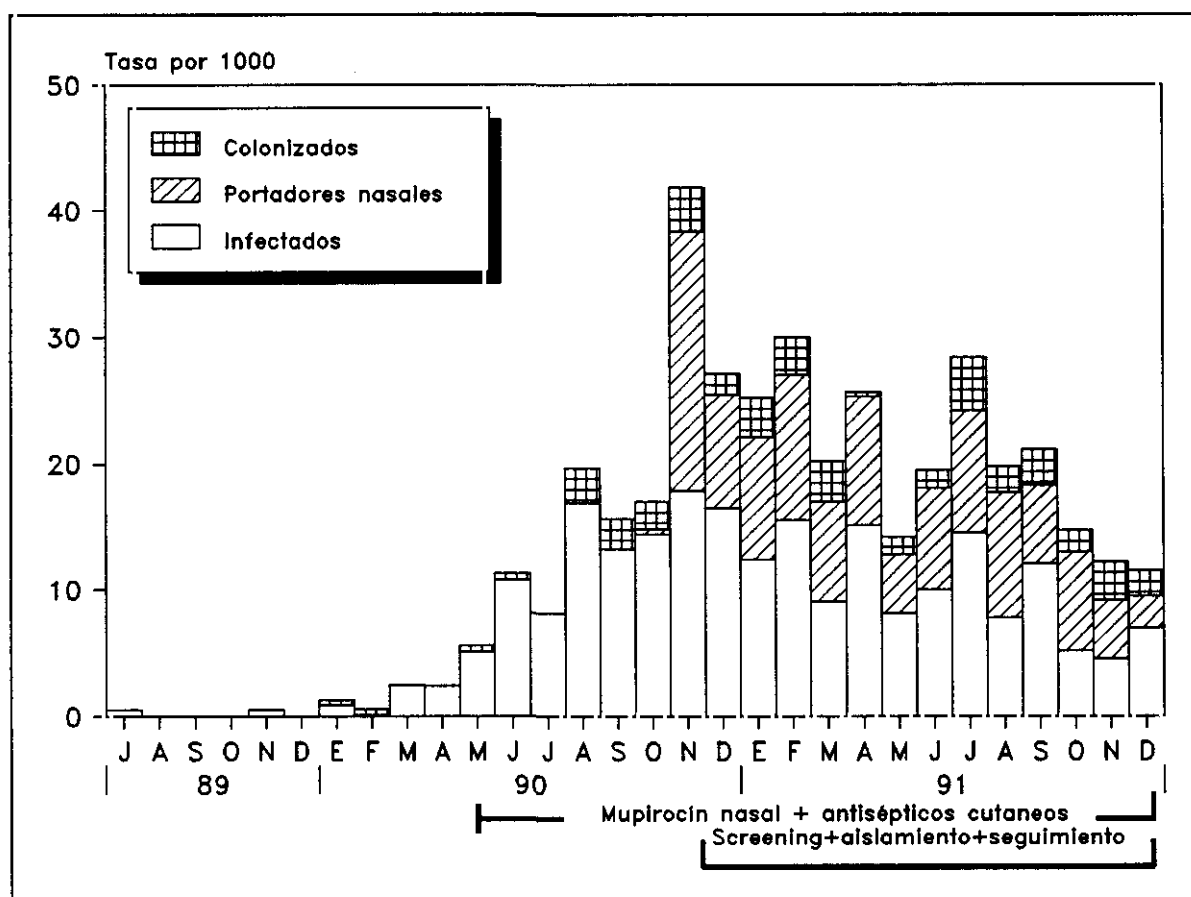


Figura 2. Brote por SARM. Curva epidémica

En la tabla I se comparan las características analizadas en ambos períodos. La estancia media disminuyó de 93 a 72 días en el período en que se instauró el programa de control ($p < 0.03$), a pesar de una ausencia de disminución estadísticamente significativa en la mortalidad atribuible a SARM.

Tabla 1. Comparación de características poblacionales antes y después de la puesta en marcha del programa de control

	Antes	Después	p
Estancia media (días)	93	72	<0.03
Muertes atribuibles (%)	17	15	No signif.

2. PAPEL DEL PERSONAL HOSPITALARIO EN LA TRANSMISION DEL BROTE

2.1. PREVALENCIA DE PORTADORES EN RELACION CON EL BROTE

Desde Noviembre de 1990 a Diciembre de 1991, se realizaron 2303 controles de exudado de fosas nasales en personal sanitario, de ellos aislamos SARM en 84 ocasiones, lo que supone una prevalencia del 3.6%.

En dos trabajadores se aisló SARM en lesiones cutáneas (uno, lesiones eczematosas y el otro lesiones postvaricela), ambos presentaban también colonización nasal.

Estos aislamientos correspondieron a un total de 72

trabajadores, ya que en varios de ellos se obtuvo mas de un aislamiento.

2.2. CARACTERISTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LAS CEPAS PROCEDENTES DE PERSONAL HOSPITALARIO

El 95% de los aislamientos se correspondían (fagotipia y antibiotipia) con la cepa epidémica causante del brote (figura 3).

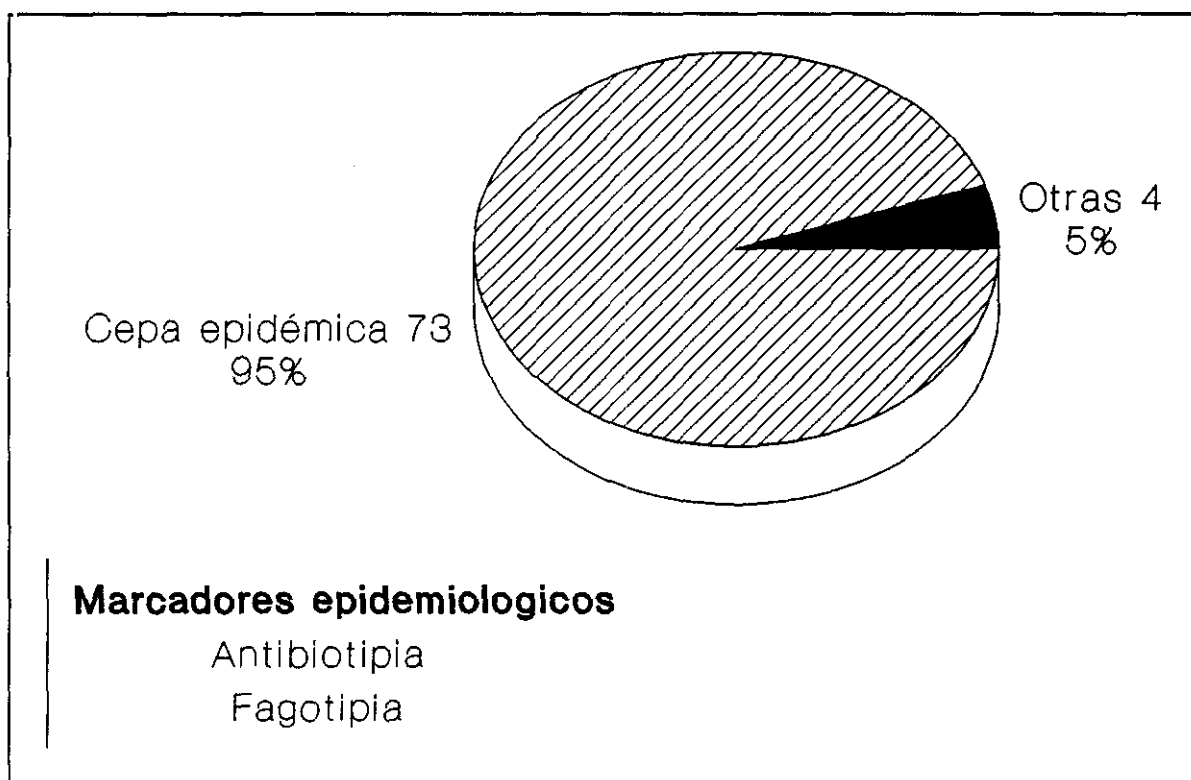


Figura 3. Aislamientos de SARM de personal hospitalario (n = 77)

Dos aislamientos presentaron resistencia de bajo nivel a mupirocín (CIM = 8 mcg/ml).

2.3. CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS TRABAJADORES COLONIZADOS

No hubo diferencias en la prevalencia de portadores en ambos sexos (figura 4).

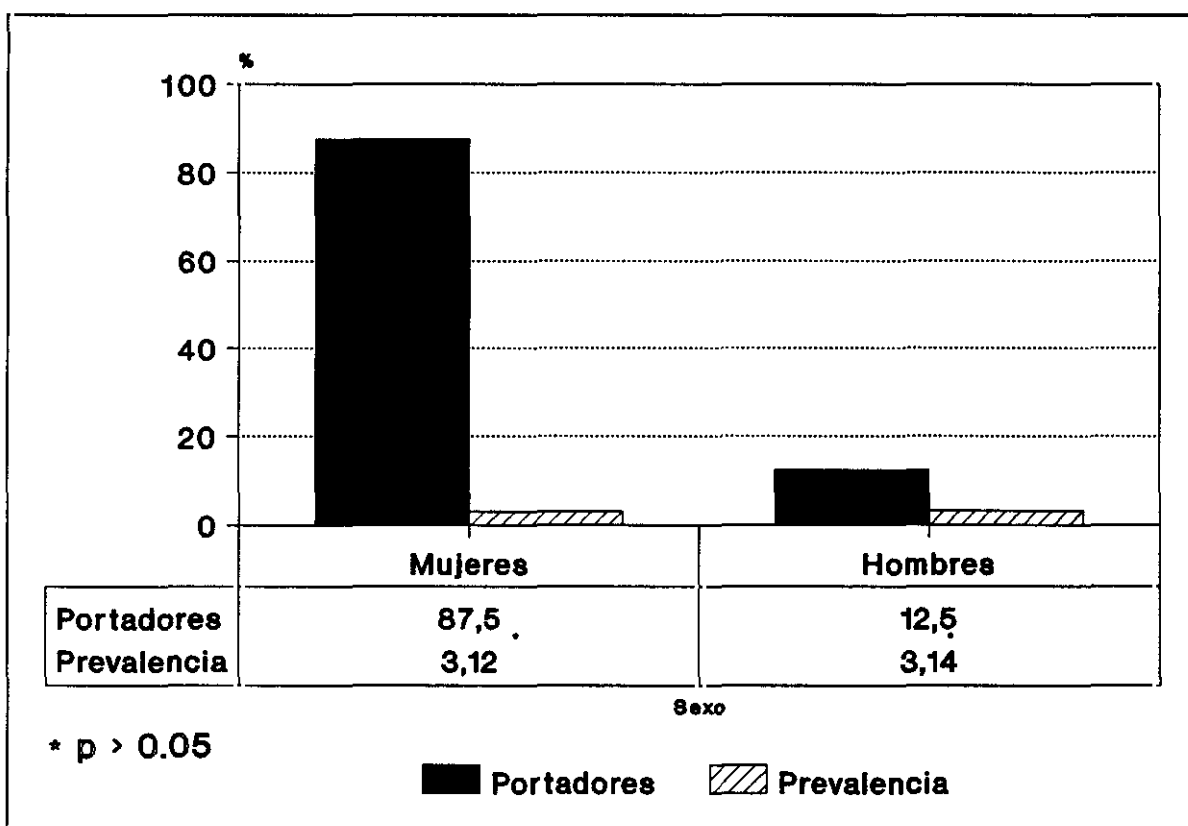


Figura 4. Personal hospitalario portador de SARM. Distribución y prevalencia por sexo

En cuanto a la distribución por profesión/puesto de trabajo, los grupos con mayor prevalencia fueron enfermeras y auxiliares de clínica (figura 5).

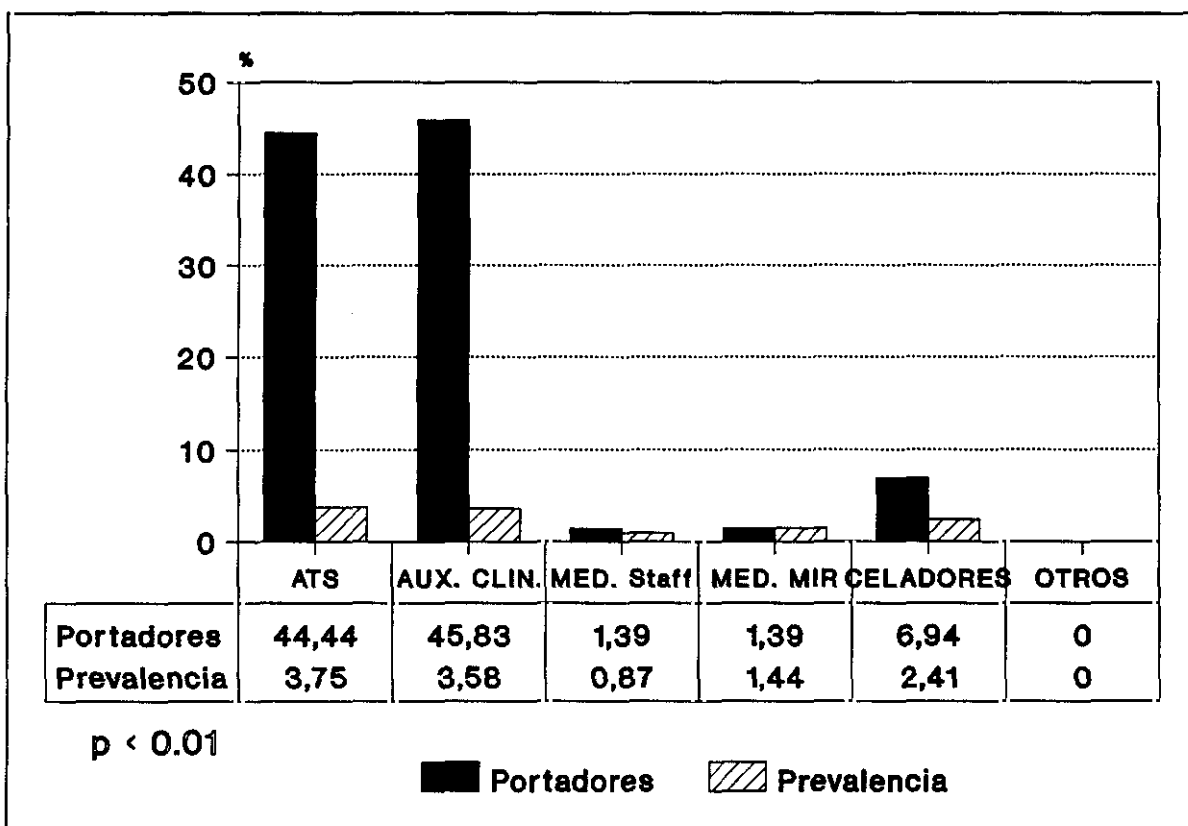


Figura 5. Personal hospitalario portador de SARM. Distribución por profesión

Así mismo se encontró una mayor prevalencia de portadores en las áreas donde se encuentran los servicios de Geriatria y Medicina Interna (plantas 4ª del ala Sur y 6ª del ala Norte), servicios donde se acumulan pacientes crónicos. En la figura 6 se muestra la distribución del personal hospitalario portador de SARM por plantas y zona Norte o Sur del hospital.

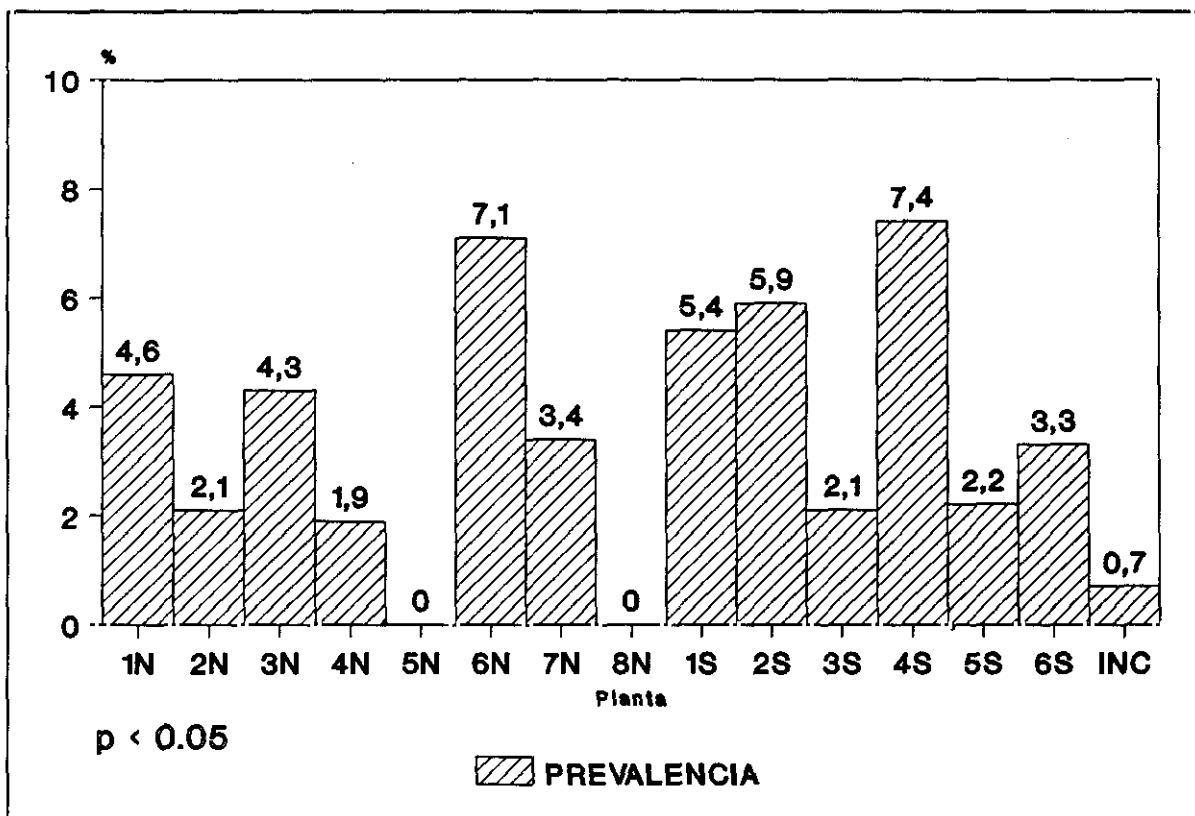


Figura 6. Personal hospitalario portador de SARM. Distribución por plantas del hospital

En la figura 7 se presenta la distribución por trimestres de los trabajadores con colonización nasal por SARM, y en la figura 8 se muestra el paralelismo existente entre la curva epidémica de pacientes infectados y la frecuencia de colonización nasal en personal hospitalario, durante el último trimestre de 1990 y año 91.

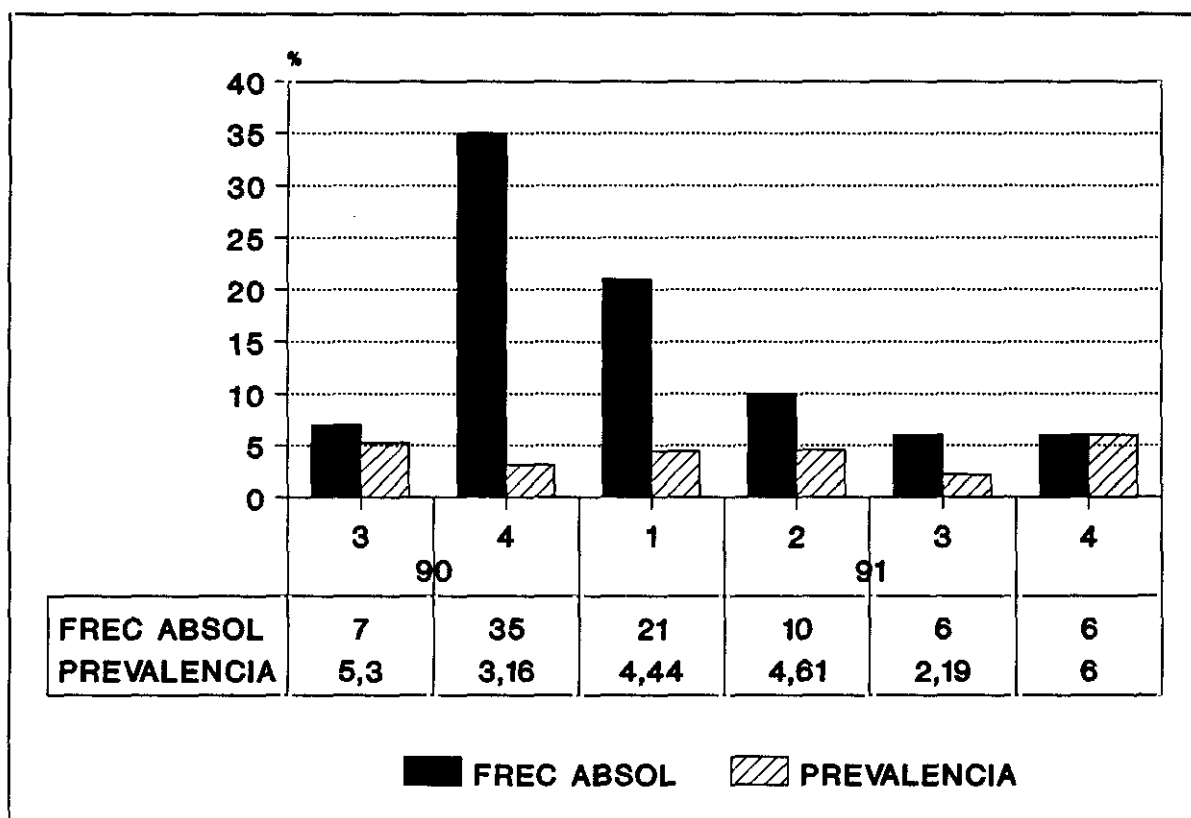


Figura 7. Personal hospitalario portador de SARM. Distribución por trimestres

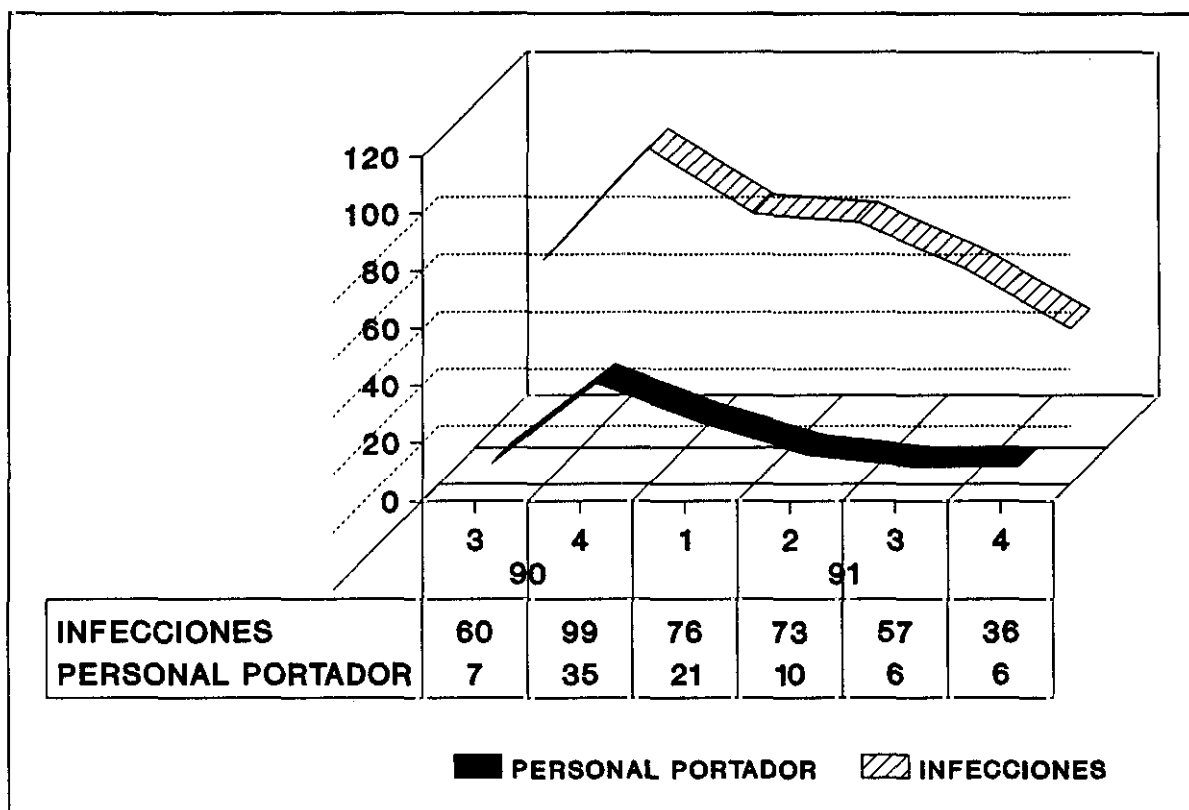


Figura 8. Frecuencia de trabajadores colonizados/curva epidémica. Distribución por trimestres

2.4. SCREENING POSTNEGATIVIZACION. COMPARACION CON GRUPO CONTROL

En el screening de colonización nasal realizado en el personal hospitalario que había sido colonizado anteriormente, durante el año 1991 por SARM, que fueron tratados y se negativizaron en su momento, y que se citaron nuevamente para realizar toma de fosas nasales en Enero de 1992, sin que hubiera indicación epidemiológica en ese momento, la prevalencia de portadores nasales de SARM obtenida fue del 8.5%, sobre un total de 47 trabajadores que acudieron a la citación.

En la figura 9 se muestran los resultados obtenidos en el screening de colonización nasal de los tres grupos dentro del personal hospitalario :

- En el grupo I (población en contacto con pacientes SARM) la prevalencia de portadores nasales de SARM fue de 3%, sobre un total de 2303 controles de exudado nasal realizados.

- En el grupo II, (subpoblación portadora de SARM : personal hospitalario que había sido colonizado anteriormente, durante el año 1991 por SARM, que fueron tratados y se negativizaron en su momento, y que se citan nuevamente para realizar screening en Enero de 1992, sin que haya indicación epidemiológica), la prevalencia de portadores nasales de SARM fue del 8.5%, sobre un total de 47 trabajadores que acudieron al screening.

- En el grupo III, (población control : 47 trabajadores que acuden a la consulta de Salud Laboral, que no habían sido detectados anteriormente como portadores de SARM y sin contacto con pacientes SARM, con una distribución similar por sexos y puesto de trabajo que los trabajadores del grupo II, no se detectó ningún portador de SARM.

La prevalencia de portadores nasales de SARM fue en este estudio significativamente mayor entre la subpoblación de trabajadores que habían sido colonizados previamente (grupo II) que en los otros dos grupos ($p < 0.05$).

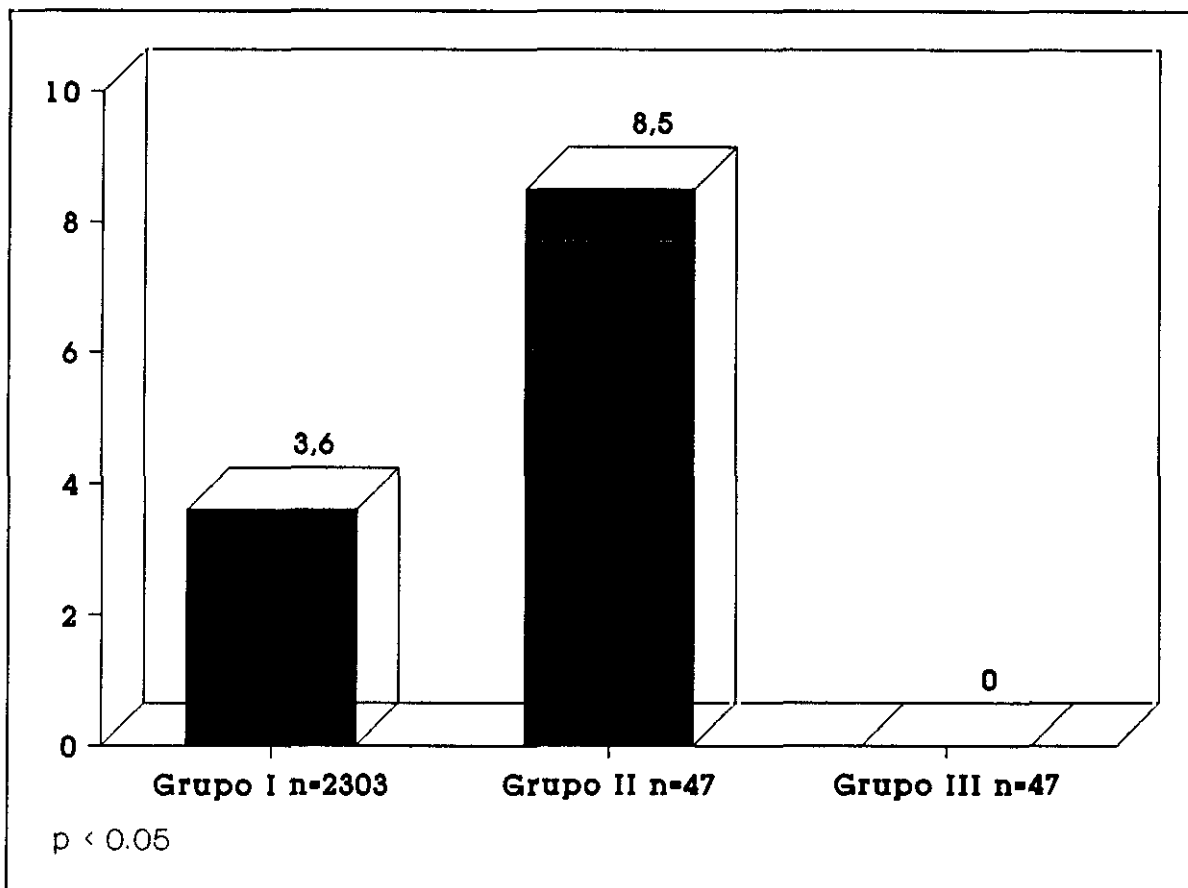


Figura 9. Prevalencia de colonización nasal por SARM en personal hospitalario

3. COMPARACION DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO PARA LA DETECCION DE PORTADORES NASALES DE S.AUREUS

En el estudio comparativo de cuatro medios de cultivo realizado para determinar la metodología microbiológica mas eficaz para utilizar en el screening de portadores nasales de

SARM, se obtuvieron un total de 88 cultivos positivos de *S.aureus*, de los que 15 fueron SARM.

En la tabla II se presentan la sensibilidad y especificidad y sus intervalos de confianza de los medios para la detección de *S.aureus*. De los dos medios selectivos empleados, (ágar manitol y ágar Baird-Parker), el ágar manitol fue mas sensible, aunque la diferencia entre sensibilidades no fue significativa ($p = 0.17$). Sin embargo, la discordancia entre ambos medios sí fue significativa ($p < 0.01$), creciendo colonias características de *S.aureus* en ágar manitol 5 veces mas que en ágar Baird Parker. La especificidad fue mayor en ágar Baird Parker que en ágar manitol ($p < 0.01$). El añadir un medio líquido (BHI) aumentó la sensibilidad de ambos medios ($p < 0.01$). En la figura 10 se representan los valores de las sensibilidades y sus intervalos de confianza.

Tabla II. Sensibilidad y especificidad para la detección de *S.aureus*

	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
Agar Baird-Parker	60.2 (50.0-70.4)	99.4 (98.6-100)
Agar manitol	67.0 (57.2-76.8)	95.5 (93.3-97.7)
Agar Baird-Parker + BHI	93.2 (87.9-98.5)	
Agar manitol + BHI	98.9 (96.7-100)	

n = 88 aislamientos de *S.aureus*

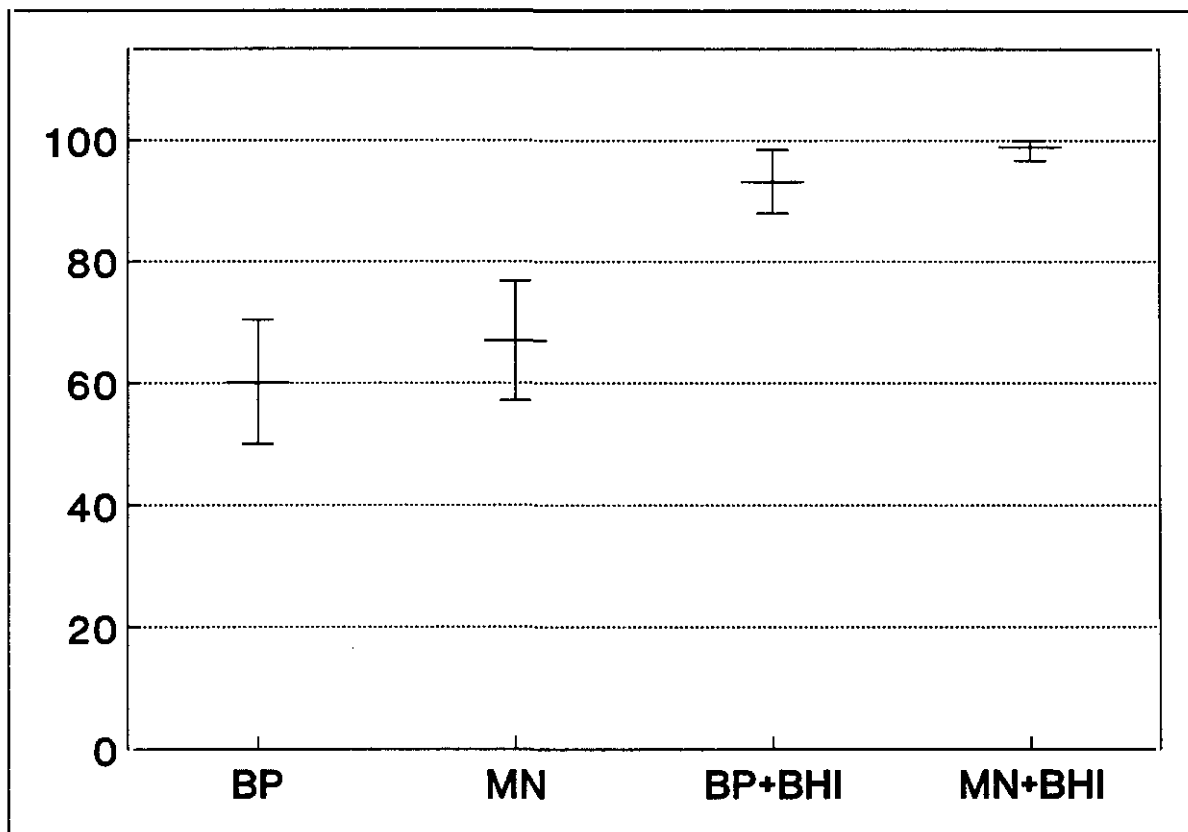


Figura 10. Sensibilidad para detección de *S.aureus*

En la tabla III se presentan los valores del valor predictivo positivo y negativo y de los cocientes de probabilidades positivo y negativo de los diferentes medios de cultivo para la detección de *S.aureus*. El valor predictivo positivo fue mayor en el ágar Baird Parker que en el ágar manitol ($p < 0.01$), no habiendo diferencia significativa entre ambos en el valor predictivo negativo. La adición de caldo de enriquecimiento a cualquiera de estos dos medios aumentó significativamente el valor predictivo negativo ($p < 0.01$).

Tabla III. Detección de *S.aureus* : Valores predictivos y cociente de probabilidades

	VP+	VP-	LR+	LR-
Agar Baird-Parker	96.4	90.9	100	0.40
Agar manitol	78.7	92.1	14.8	0.35
Agar Baird-Parker + BHI		98.2		0.07
Agar manitol + BHI		99.7		0.01

n = 88 aislamientos de *S.aureus*

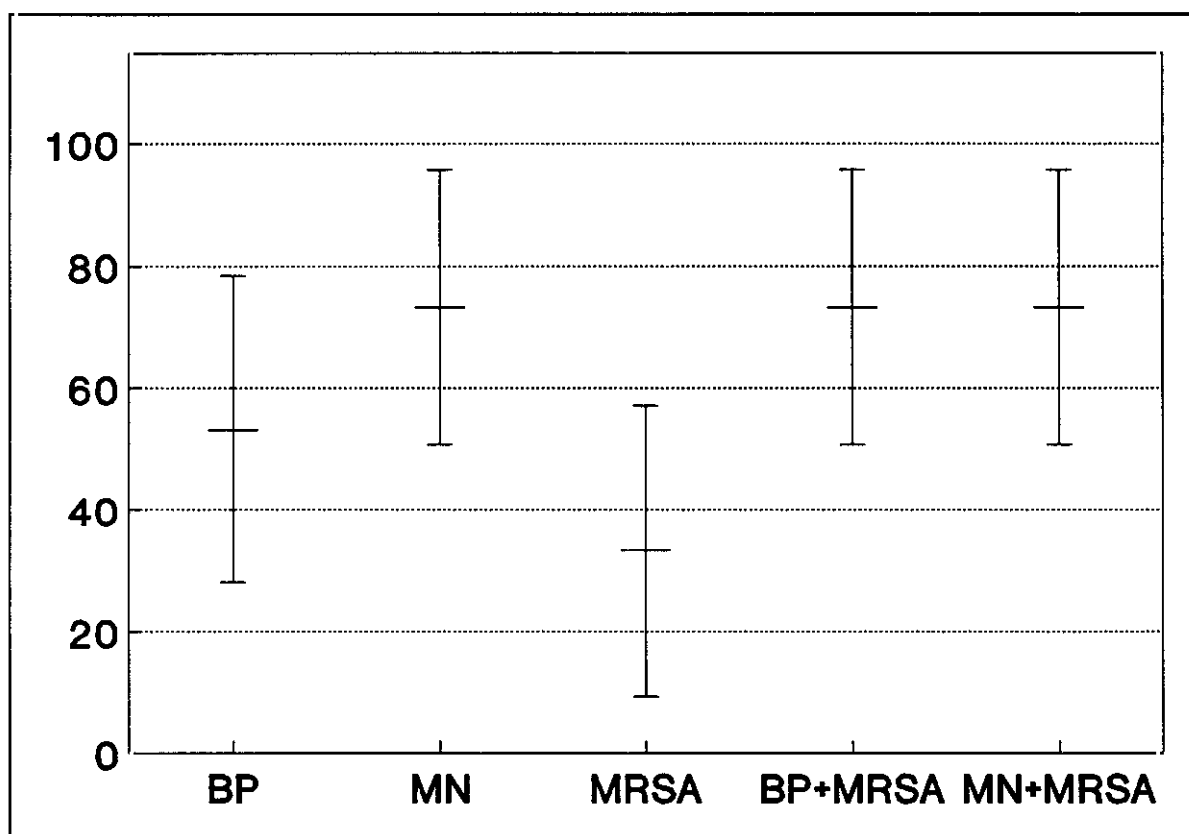
En la tabla IV, se presentan los valores de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, con sus intervalos de confianza, y cociente de probabilidades positivo y negativo del ágar MRSA, para la detección de SARM en la siembra directa. Este medio mostró muy baja sensibilidad (33.3%)

En la figura 11 se representan los valores de la sensibilidad y sus intervalos de confianza para detección de SARM del ágar Baird Parker, ágar manitol, y ágar MRSA, cuando se utilizan solos o conjuntamente. La adición de la placa de ágar MRSA al ágar Baird Parker o al ágar manitol no aumentó significativamente la sensibilidad.

Tabla IV. Agar MRSA : Detección de SARM en la siembra directa

Sensibilidad (%)	33.3 (9.4-57.2)
Especificidad (%)	99.5 (98.8-100)
VP+	71.4 (38.0-100)
VP-	97.7 (96.3-99.1)
LR+	66.6
LR-	0.67

n = 15 aislamientos de SARM

**Figura 11.** Sensibilidad para detección de SARM

4. MUPIROCIN EN PORTADORES NASALES DE SARM

4.1. EFICACIA EN PACIENTES

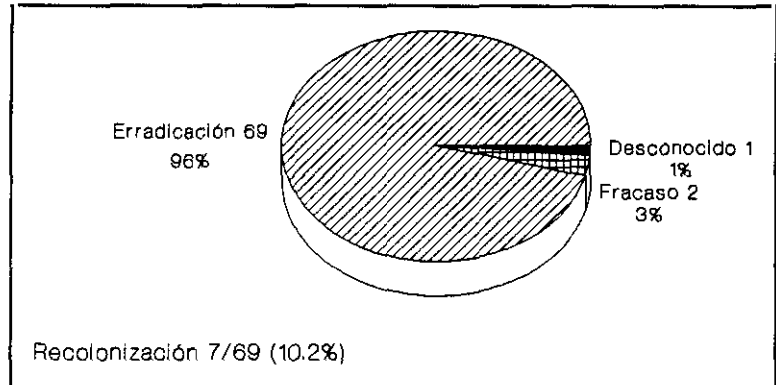
Los pacientes portadores exclusivamente nasales presentaron una tasa de respuesta del 100% a una tanda de tratamiento con mupirocín intranasal tres veces al día durante 5-7 días. Esta tasa se redujo al 75% si el paciente era también portador de SARM en otras localizaciones o tenía infección por SARM ($p < 0.001$). En la tabla V se presenta la tasa de respuesta al tratamiento en 254 pacientes, inmediatamente después de finalizar el tratamiento, a los 4-7 días, 8-15 días y más de 3 semanas. Entre 8 y 15 días de seguimiento, de 36 pacientes con colonización nasal que se pudieron seguir, 34 se mantenían descolonizados, y de los 13 pacientes en que se pudo realizar el seguimiento más allá de 3 semanas, 12 (92%) se mantuvieron sin recolonizarse.

Tabla V. Eliminación de la colonización nasal después de una tanda de 5-7 días de mupirocín intranasal en 254 pacientes

Localización de SARM	N° de pacientes con exudado nasal negativo después del tto. con mupirocín :			
	0 días	4-7 días	8-15 días	>3semanas
Col.nasal exclusivamente	65/65 (100%)	49/49 (100%)	34/36 (94%)	12/13 (92%)
Col.nasal + col.extranasal	53/71 (75%)	35/45 (78%)	22/30 (73%)	10/14 (71%)
Col.nasal + infección	89/118 (75%)	67/89 (75%)	52/71 (73%)	26/40 (65%)

4.2. EFICACIA EN PERSONAL HOSPITALARIO

Entre el personal hospitalario con colonización nasal por SARM, la tasa de respuesta al tratamiento, (dos controles negativos, a la semana y a las dos semanas de finalizar un ciclo de tratamiento) fue del



96% (2 fracasos de 71 trabajadores). Entre los trabajadores que respondieron al tratamiento, en el 10.2% se detectó recolonización por SARM en ocasiones posteriores en que hubo nueva indicación epidemiológica de screening y en intervalos con la primera colonización que oscilaron entre 1 y 10 meses (figura 12).

4.3. RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA

El primer aislamiento SARM con bajo nivel de resistencia a mupirocín (concentración inhibitoria mínima = 8-16 mcg/ml) se detectó a los 2 meses de la introducción del antimicrobiano en el hospital.

Los porcentajes de sensibilidad a mupirocín (concentración inhibitoria mínima \leq 4 mcg/ml) de todas las cepas de SARM aisladas en el hospital procedentes de fosas nasales, exudados

faringeos o muestras cutáneos, durante los años siguientes, con un extensivo uso del antimicrobiano en el hospital han sido :

1990	95.4%
1991	88.4%
1992	97.0%
1993	95.4%

En el año 1994, el nivel de sensibilidad a mupirocín en los aislamientos de SARM procedentes de las mismas muestras de colonización ha disminuido al 70.9% (datos de Enero a Mayo), y el 60% de los pacientes con aislamientos resistentes a mupirocín no tenían aislamientos previos de SARM sensible a mupirocín.

No se ha encontrado ningún aislamiento con alto nivel de resistencia.

4.4. RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PORTADORES DE CEPAS RESISTENTES

La comparación entre la respuesta al tratamiento en los pacientes con SARM resistente a mupirocín y los pacientes con cepas sensibles al mismo, demuestra que no hay diferencia entre los dos grupos, no siendo la resistencia de bajo nivel un factor condicionante en la eficacia del medicamento. En la tabla VI se presentan los datos del seguimiento después del tratamiento con mupirocín, de pacientes portadores de cepas SARM sensibles o resistentes a este antimicrobiano.

Tabla VI. Bajo nivel de resistencia a mupirocín y erradicación nasal después de una tanda de 5-7 días de mupirocín intranasal

N° de días después del tratamiento	N° de pacientes con erradicación nasal después de una tanda de mupirocín :		
	SARM resistente a mupirocín	SARM sensible a mupirocín	p
1	23/32 (72%)	184/222 (83%)	0.209
4-7	18/24 (75%)	133/159 (84%)	0.384
8-15	11/18 (61%)	97/119 (81%)	0.063
>21	4/8 (50%)	44/59 (75%)	0.209

5. ENSAYO CLINICO RANDOMIZADO, CONTROLADO CON PLACEBO DE MUPIROCIN CALCICO EN LA ERRADICACION DEL ESTADO DE PORTADOR NASAL DE S.AUREUS

5.1. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Se realizaron un total de 520 cultivos de exudado nasal en los 68 sujetos que participaron en el ensayo, obteniéndose a partir de estos cultivos 289 aislamientos de *S.aureus*. En la tabla VII se presentan el número de cultivos realizados y el

número de aislamientos de *S.aureus* en cada muestra de los 68 sujetos.

Tabla VII. Número de cultivos realizados y número de aislamientos de *S.aureus* en las muestras del estudio

Muestra	N° de cultivos	N° de aislamientos
01	68	68
02	68	66
03	65	61
04	64	46
05	62	33
06	29	3
07	25	3
08	21	1
09	18	2
10	15	0
11	17	1
12	16	2
13	13	0
14	14	0
15	14	3
16	11	0

De los 289 aislamientos, 9 (3.1%) se obtuvieron solo a partir del enriquecimiento en medio líquido.

De los 289 aislamientos, 140 corresponden a las muestras 3, 4, o 5, muestras en las que la siembra se hizo, además de en los otros medios de cultivo, en ágar charcoal para neutralizar la actividad residual de mupirocín. De estos 140 aislamientos, 48 proceden del grupo experimental, y 92 del grupo placebo. De los 48 procedentes del grupo experimental, 25 (52%) se recuperaron exclusivamente en el ágar charcoal, y no en los otros medios de cultivo empleados. Si no se hubiera utilizado ágar charcoal, habríamos obtenido diferencias en la evaluación microbiológica (muestra en la que el cultivo se negativiza) en 16 de los 32 sujetos tratados con mupirocín (50%). De estos 16 pacientes, en 14 se hubiera obtenido negativización del estado de portador en una o dos muestras previas a la que en realidad ocurre este hecho cuando en el estudio se incluye ágar charcoal, y 2 sujetos, evaluados como persistencia del estado de portador (muestra 5 positiva en ágar charcoal exclusivamente), hubieran sido evaluados como erradicación del estado de portador si no se hubiera utilizado este medio de cultivo. Los 92 aislamientos procedentes del grupo control se recuperaron en todos los medios empleados.

En la tabla VIII se presentan los porcentajes de sensibilidad de los 289 aislamientos a los distintos antibióticos probados. Los aislamientos se distribuyeron en 10 patrones de antibiotipia. En la tabla IX se presentan estos diez patrones y el número de aislamientos incluidos en cada patrón. El patrón mas frecuente fue resistencia a penicilina y sensibilidad al resto de los antibióticos, que incluyó al 82% de las cepas.

En la tabla X se presentan los fagogrupos obtenidos y el número y porcentaje de cepas incluido en cada fagogrupo.

Tabla VIII. Porcentaje de sensibilidad de los 289 aislamientos de *S.aureus* a los antibióticos ensayados en el estudio

Antibiótico	Porcentaje
Penicilina	4.5
Norfloxacina	98.6
Cotrimoxazol	98.2
Eritromicina	86.5
Tetraciclina	96.5
Cloranfenicol	98.6
Vancomicina	100
Rifampicina	99.6
Oxacilina	99.6
Gentamicina	99.6

Tabla IX. Relación de los 10 patrones de antibiotipia evaluados en 289 aislamientos

Patrones de antibiotipia	N° de aislamientos
1. R penicilina (*1)	237
2. R tetraciclina	5
3. S todos los antibióticos (*2)	8
4. R penicilina y cloranfenicol	1
5. R penicilina, MS eritromicina (*3)	3
6. R penicilina y eritromicina	30
7. R penicilina, norfloxacina, eritromicina, tetraciclina, rifampicina, gentamicina y oxacilina	1
8. R penicilina, norfloxacina y cotrimoxazol. MS eritromicina y tetraciclina	3
9. R penicilina y cotrimoxazol MS eritromicina y tetraciclina	1
10. R penicilina y cotrimoxazol MS eritromicina	1

*1 R = resistente

*2 S = sensible

*3 MS = medianamente sensible

Tabla X. Fagogrupos de los aislamientos de *S.aureus* de la población del estudio

Fagogrupo	Número	Porcentaje
I	87	30.1
II	15	5.2
III	42	14.5
MIXTO	8	2.8
V	27	9.3
95	17	5.9
81	8	2.8
NT	85	29.4

Los resultados de la antibiotipia y fagotipia se utilizaron para distinguir en el caso de que hubiera recolonización, entre las recidivas por la misma cepa y las reinfecciones por una cepa distinta. La concordancia entre los resultados de la antibiotipia y fagotipia fue del 96.7%, existiendo discrepancia entre estos dos marcadores epidemiológicos en dos sujetos, en los que se valoró preferentemente los resultados de la fagotipia.

Los 289 aislamientos fueron sensibles a mupirocín, oscilando las concentraciones inhibitorias mínimas entre <0.06 y 0.25 mcg/ml, y los halos de inhibición de 18 a 29 mm.

5.2. RESULTADOS GENERALES DE LA POBLACION DE ESTUDIO

Sesenta y ocho sujetos entraron en la randomización, previo consentimiento informado de cada uno de ellos, De los 68 sujetos randomizados, 26 fueron hombres y 42 mujeres (figura 13). La distribución de la variable sexo por grupo de estudio ha resultado homogénea ($p > 0.05$) (figura 14).

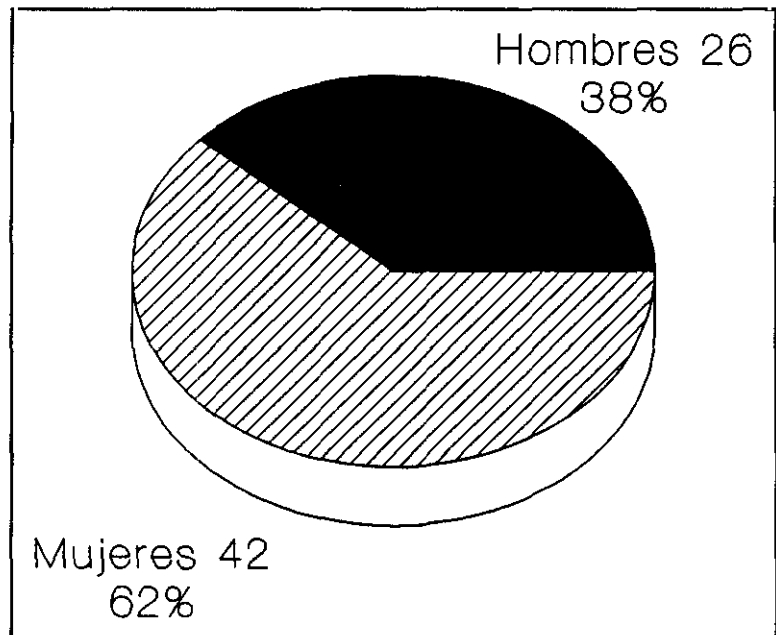


Figura 13. Distribución global por sexo

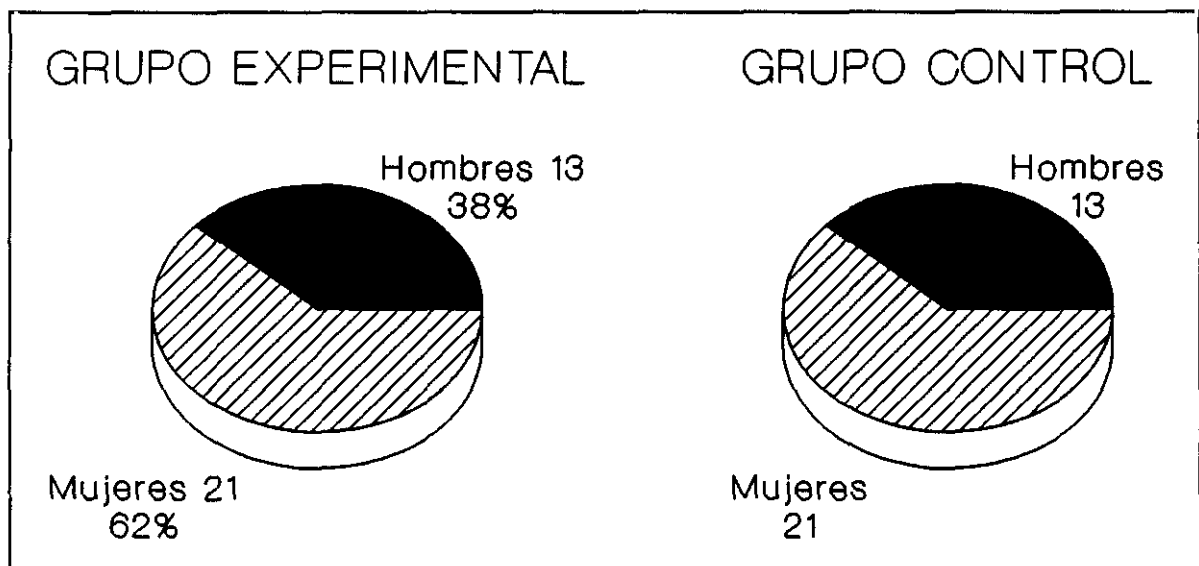


Figura 14. Distribución del sexo por grupo de estudio

Los resultados de la estadística descriptiva de las variables demográficas se muestran en la tabla XI. Al realizar

las comparaciones de las variables para ambos grupos de estudio, (tabla XII), no se encontraron diferencias poblacionales, lo que sugiere que ambos grupos son homogéneos por la selección randomizada.

Tabla XI. Resultados de la estadística descriptiva de las variables cuantitativas demográficas en la población total de 68 sujetos

	Media (DE)	Rango (V max - V min)
Edad (años)	37.1 (10.8)	39.4 (60.5 - 21.1)
Peso (Kg)	64.3 (10.3)	42.0 (90 - 48)
Talla (cm)	165 (9.0)	39 (188 - 149)

Tabla XII. Comparación de las variables demográficas para ambos grupos de estudio de la población total de 68 sujetos

	Experimental (n=34) Media (DE)	Control (n=34) (Media DE)	t	p
Edad (años)	38.0 (11.4)	36.2 (10.3)	0.69	ns
Peso (Kg)	63.6 (9.9)	65 (10.8)	0.57	ns
Talla (cm)	164.0 (8.9)	165.3 (8.7)	0.55	ns

Se registraron 9 eventos basales en 7 sujetos, con una tasa de 1.28 eventos basales por individuo. En el grupo experimental 4 sujetos presentaban 5 eventos antes del tratamiento, y en el grupo control, 3 sujetos presentaron 4 eventos antes del tratamiento. En la tabla XIII se presentan los 9 eventos basales, su distribución en ambos grupos de estudio, su intensidad, curso y resultado.

Tabla XIII. Relación de los eventos basales (9 eventos en 7 sujetos)

N° sujeto	Grupo	Tipo	Intensidad	Curso	Resultado
5	Exp.	Astenia	_____	_____	Resuelto
5	Exp.	Otalgia	Moderada	Aislado	Resuelto
38	Exp.	Cefalea	Moderada	Intermit.	Continua
52	Exp.	Hernia discal	Moderada	Continuo	Terapia
53	Exp.	Lumbalgia	Moderada	Intermit.	Resuelto
26	Cont.	Cong.nasal	Moderada	Intermit.	Resuelto
43	Cont.	Insomnio	Moderada	Intermit.	Terapia
43	Cont.	Astenia	Moderada	Continuo	Terapia
44	Cont.	Cong.nasal	Leve	Intermit.	Resuelto

Catorce sujetos (21%), 8 del grupo experimental y 6 del grupo control, tuvieron medicación previa al estudio (tabla XIV) ($p > 0.05$). De ellos, 8 continuaron con la medicación como concomitante durante el período de estudio, distribuidos homogéneamente en ambos grupos.

Tabla XIV. Distribución de individuos que han recibido medicación previa al inicio del tratamiento del estudio

Medicación previa	Experimental		Control	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
SI	14 (21)	8 (57)	6 (43)	
NO	54 (79)	26 (48)	28 (52)	
TOTAL	68 (100)	34		

Chi cuadrado no significativo

La distribución de individuos con medicación concomitante y el tipo de medicación se recoge en las tablas XV y XVI. Diecisiete sujetos tuvieron medicación concomitante, 10 de ellos (59%) del grupo experimental y 7 (41%) del grupo control ($p > 0.05$).

De los 68 sujetos que iniciaron el estudio, 9 no lo finalizaron. Las razones de la no finalización y las muestras evaluables en estos sujetos se detallan en la tabla XVII.

Tabla XV. Distribución de individuos con medicación concomitante a la del estudio en cada grupo de tratamiento en la población total de 68 sujetos

Medicación previa	Experimental		Control
	n (%)	n (%)	n (%)
SI	17 (25)	10 (59)	7 (41)
NO	51 (75)	24 (47)	27 (53)
TOTAL	68 (100)	34	34

Chi cuadrado no significativo

Tabla XVI. Descripción de los 24 fármacos descritos en la medicación concomitante al estudio en la población total de individuos

Grupo	Experimental	Control
	(n = 15)	(n = 9)
Analgésicos	5	1
AINES	1	1
Vacunas	3	
Ansiolíticos	2	3
Hipolipemiantes		1
Antibióticos	1	
Otros	3	3

Tabla XVII. Incidencias en la población de estudio

Sujeto n°	Grupo	Incidencia	Muestra evaluable
32	Exp.	No se confirma el estado de portador nasal	01
46	Cont.	"	01
41	Exp.	No cumple el tto.	01 a 03
53	Exp.	No cumple el tto.	01 a 02
47	Exp.	Efecto adverso grave no relacionado	01 a 04
15	Cont.	Efecto adverso prob. relacionado. Código abierto. Se administran 5 dosis	01 a 03
20	Exp.	Seguimiento hasta muestra 11	01 a 11
35	Exp.	Seguimiento hasta muestra 6	01 a 06
42	Exp.	Seguimiento hasta muestra 8	01 a 08

5.3. VALORACION DE LA EFICACIA

5.3.1. EFICACIA DURANTE EL TRATAMIENTO (muestra 2 a 5)

La valoración de la disminución de la densidad del cultivo desde el inicio del tratamiento, fue realizada mediante el estudio semicuantitativo (por rangos) de las muestras dos a cinco. En el grupo experimental se obtiene un descenso significativo de la densidad de colonias (chi cuadrado = 37.16, $p < 0.001$), mientras que en el grupo control el test no es significativo (chi cuadrado = 2.57, $p > 0.05$), no observándose un descenso de la densidad de colonias a lo largo del tiempo de tratamiento (figuras 15 y 16).

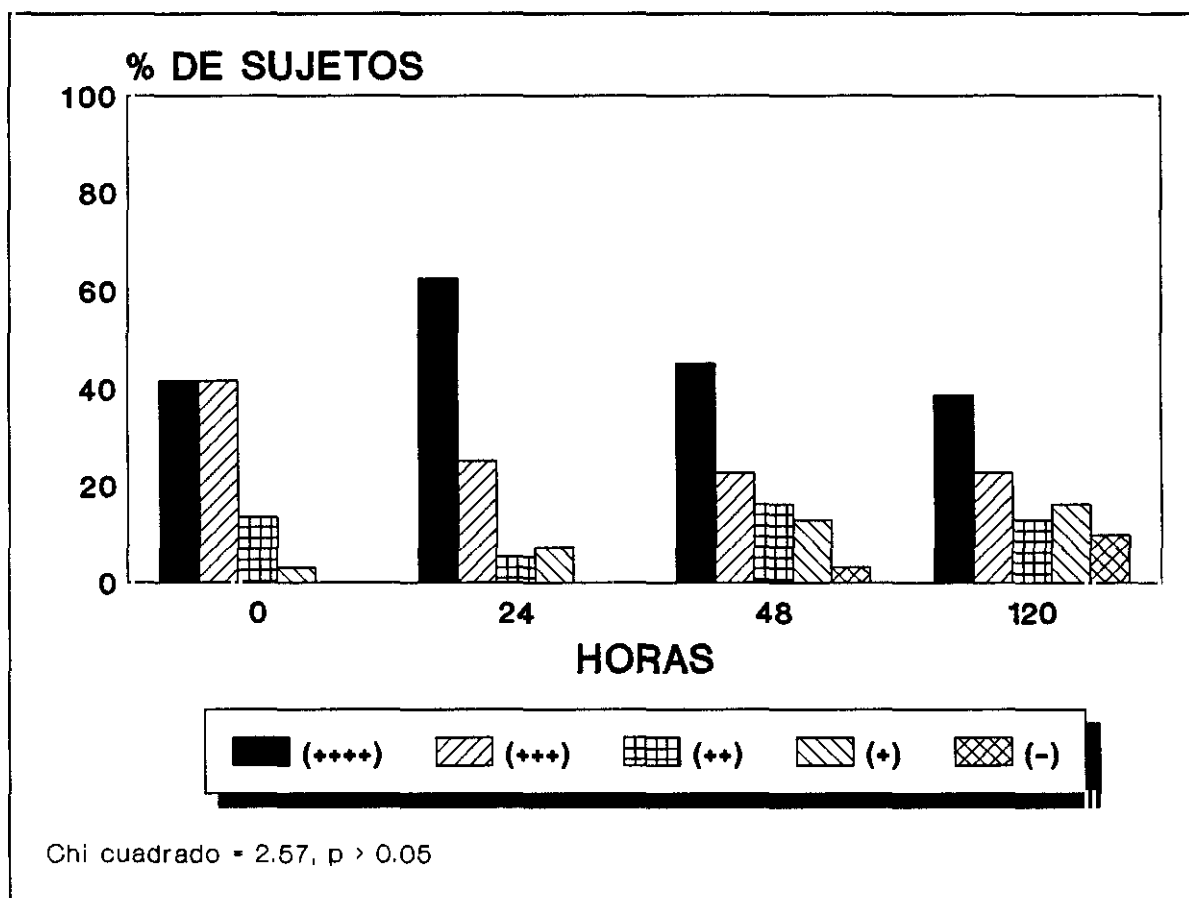


Figura 15. Densidad de colonias de S.aureus durante el tratamiento. Grupo control

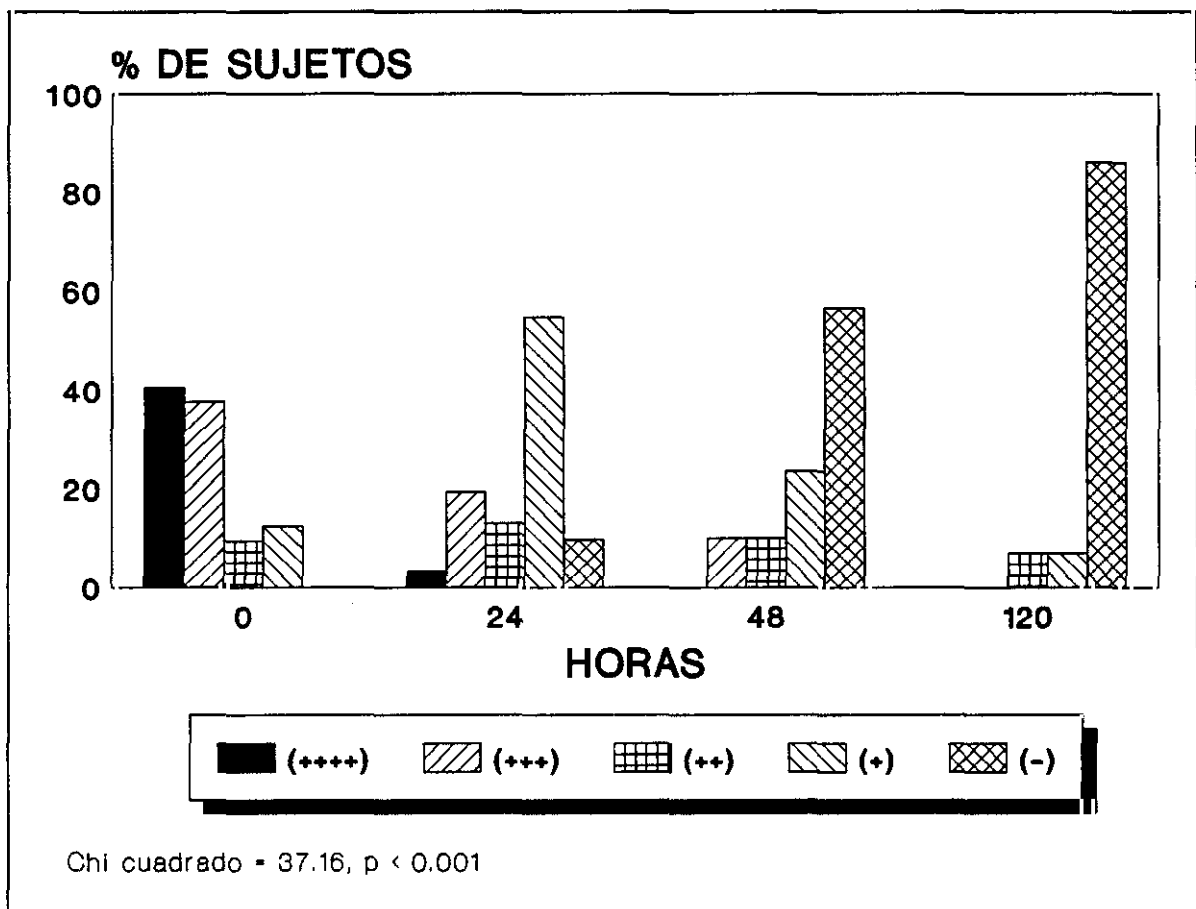


Figura 16. Densidad de colonias de S.aureus durante el tratamiento. Grupo experimental

En el grupo experimental, en la muestra 4, a las 48 horas de iniciado el tratamiento con mupirocín, permanecían como portadores 13 de los 31 sujetos evaluables en ese momento, y en la muestra 5, 4 de los 30 sujetos evaluables a las 120 horas. Esto implica un descenso significativo del 58% (IC 95% = 40.6-75.4) entre el comienzo y las 48 horas de iniciado el tratamiento y del 87% (IC 95% = 74.5-98.8) entre el comienzo y las 120 horas. Es de destacar el descenso significativo en la probabilidad de persistir portador entre las 24 horas (muestra 3) y las 48 horas (muestra 4) del inicio del tratamiento. Con el test de comparación por contraste bilateral de Mantel-Haenszel, se obtiene una $p < 0.001$ (figura 17).

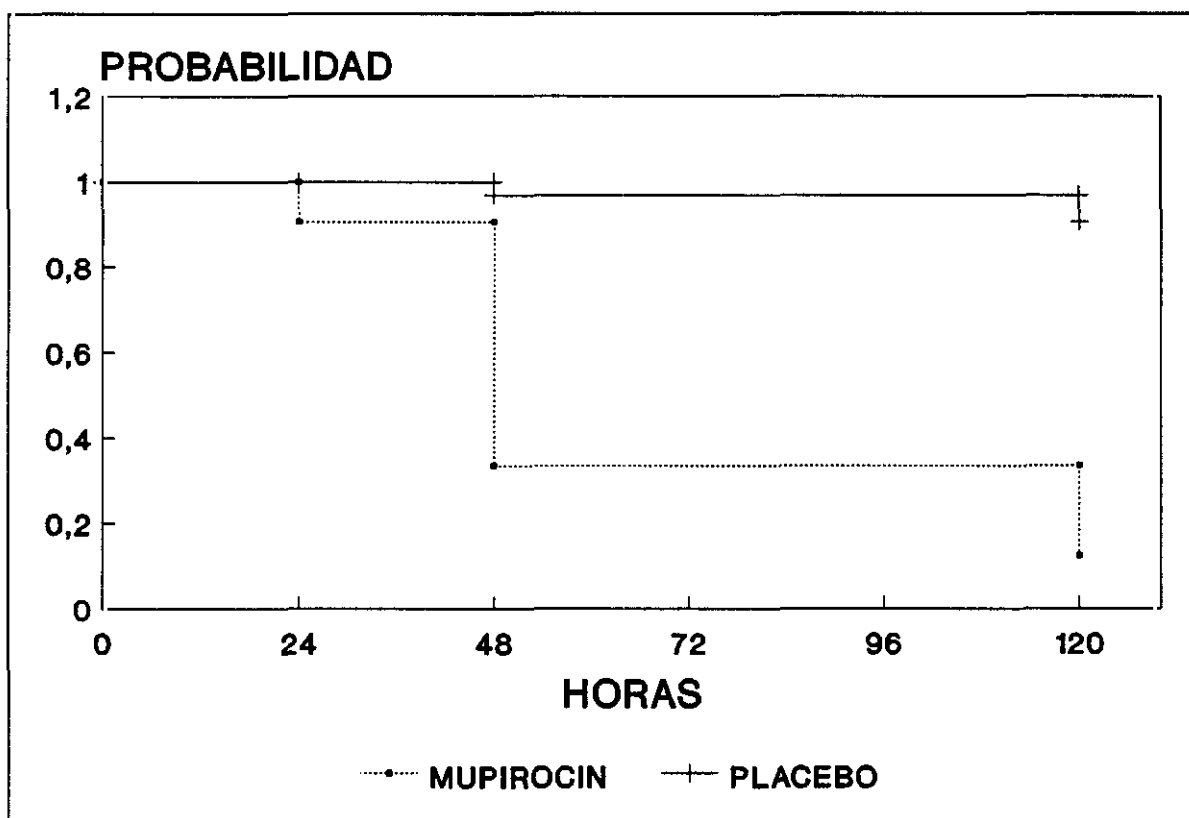


Figura 17. Comparación de la persistencia del estado de portador durante el tratamiento

5.3.2. EFICACIA POSTRATAMIENTO (muestra 5, tiempo 0 de seguimiento)

Treinta sujetos (88%) pudieron ser evaluados en el grupo de mupirocín y treinta y dos (94%) en el grupo placebo (figura 18).

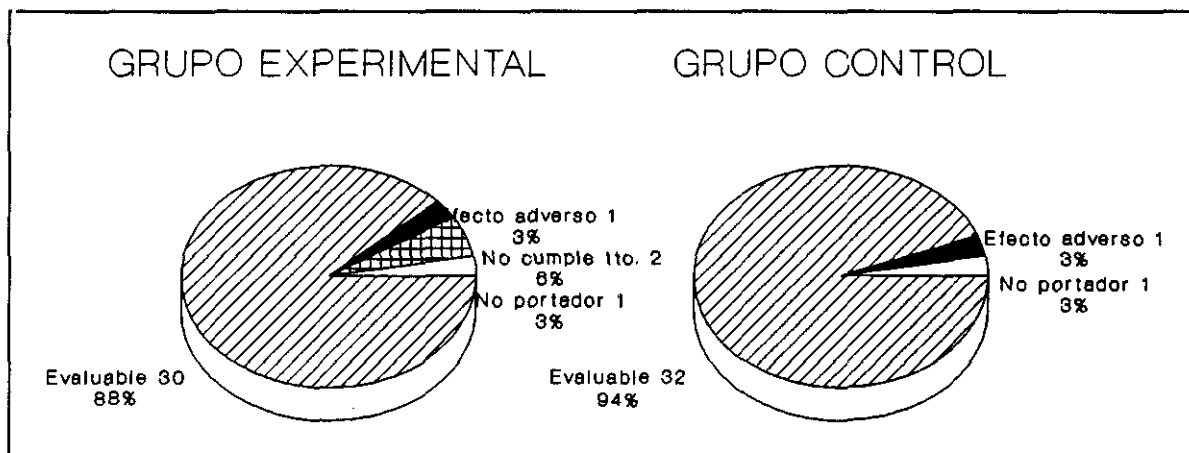


Figura 18. Distribución de la población global por grupo de estudio

La erradicación del estado de portador se obtuvo en 26 de los 30 sujetos evaluados en el grupo experimental frente a 3 de los 32 sujetos evaluados en el grupo control. Los porcentajes de respuesta positiva se muestran en la figura 19. Se obtiene un 86.7% de erradicación muestral de *S.aureus* en portadores tras el tratamiento con mupirocín. La diferencia observada entre ambos grupos es de 77.3%, con un porcentaje poblacional comprendido en el intervalo 59.8% y 94.3%, con un 95% de confianza. La diferencia observada entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($p < 0.001$).

En esta misma figura se observa una probabilidad de permanecer portador de *S.aureus* en la muestra 5, al finalizar el tratamiento del 13.3% en el grupo experimental frente al 90.7% en el grupo control.

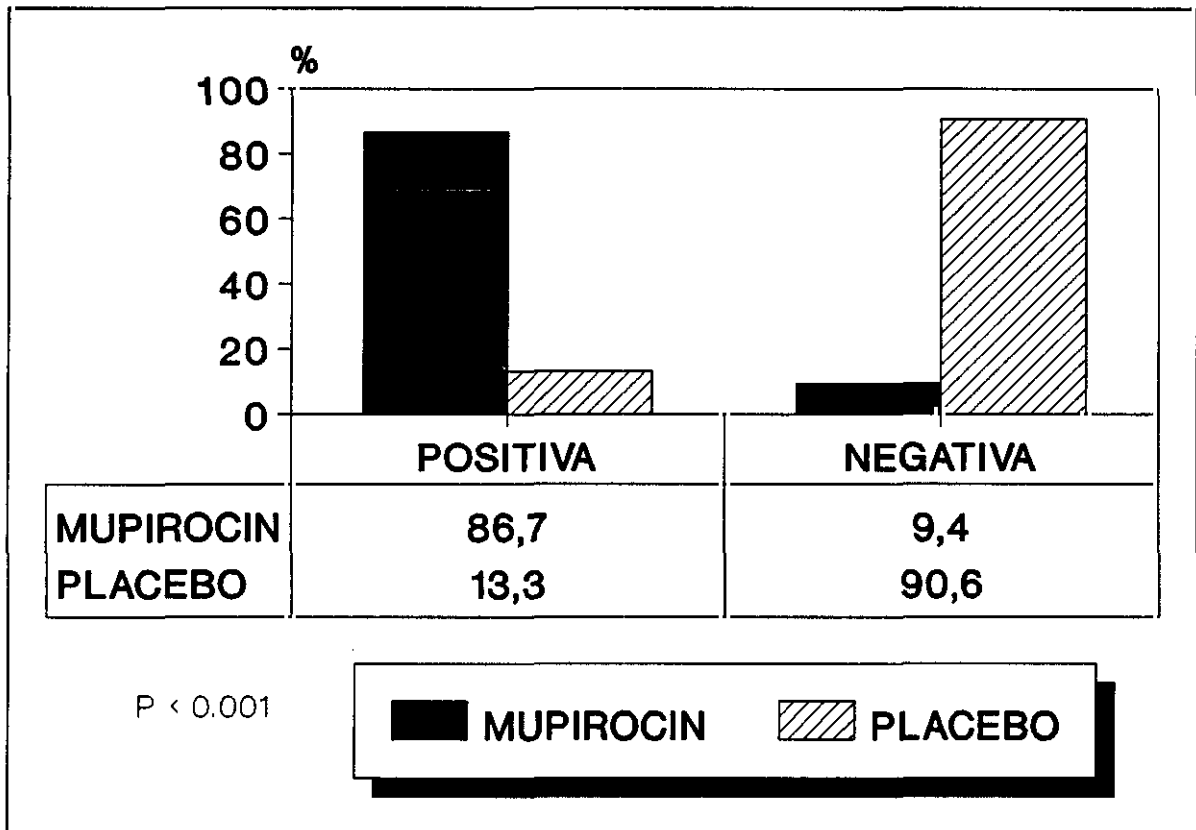


Figura 19. Respuesta tras tratamiento por grupo de estudio

5.3.3. VALORACION DURANTE EL SEGUIMIENTO (muestras 5-16, tiempos 0-180 días de seguimiento)

La valoración de la respuesta al tratamiento a lo largo del tiempo de seguimiento se muestra en la figura 20 y tabla XVIII a través de los porcentajes acumulados de sujetos que permanecen libres de colonización nasal por *S.aureus*.

A partir del 87% de erradicación (negativización) obtenido al finalizar el tratamiento (tiempo 0), se observa una disminución del porcentaje de sujetos no portadores, llegándose a una tasa constante del 44% de sujetos entre los 60 y 120 días de seguimiento y a un 33% a los 180 días de seguimiento. En la

tabla XVIII se muestran dichos porcentajes acumulados de negativización y el ajuste lineal obtenido, que permite estimar un descenso del porcentaje del número de sujetos negativos del 4.4% ($r = -0.97$, $p < 0.001$) en las sucesivas muestras analizadas.

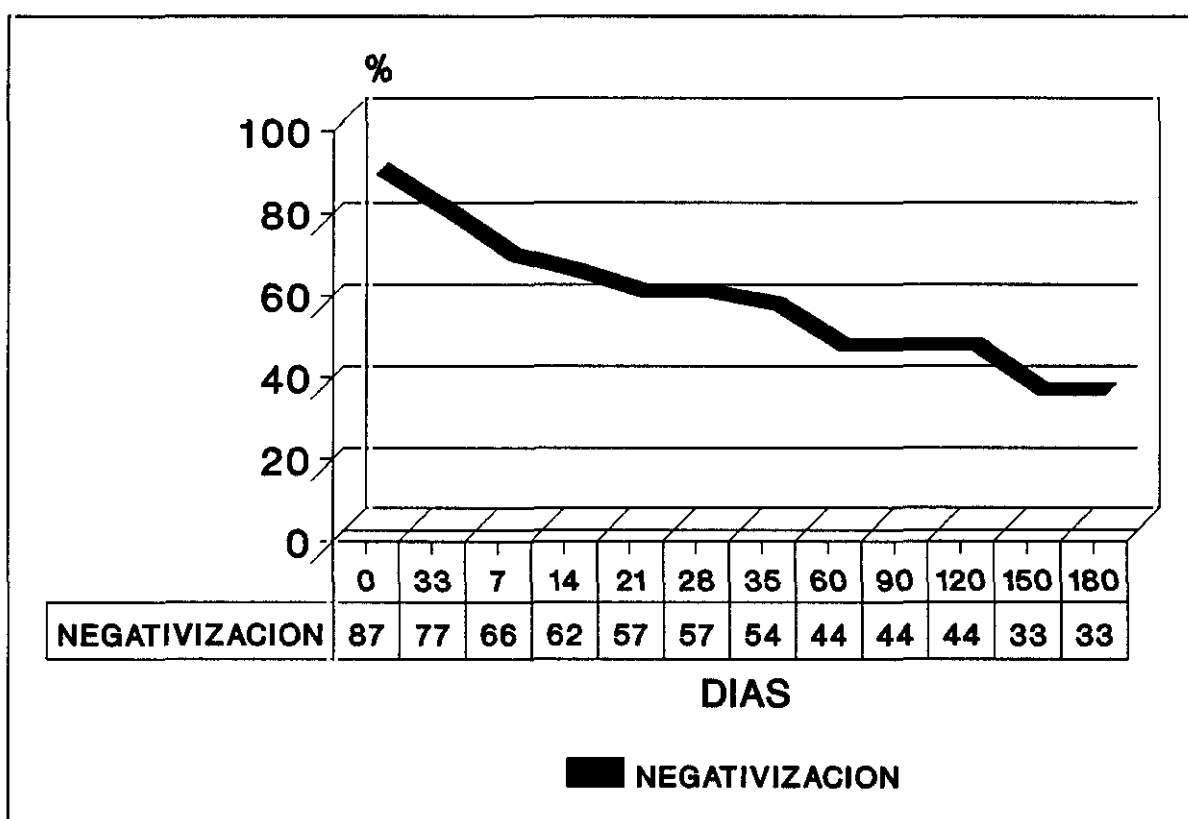


Figura 20. Porcentaje acumulado de negativización en el tiempo

Tabla XVIII. Porcentajes acumulados de erradicación a los tiempos establecidos para el grupo experimental

Muestra	Tiempo (días)	n	n° de no portadores	%
05	0	30	26	86.7
06	3	30	23	76.7
07	7	29	19	65.5
08	14	29	18	62.1
09	21	28	16	57.1
10	28	28	16	57.1
11	35	28	15	53.6
12	60	27	12	44.4
13	90	27	12	44.4
14	120	27	12	44.4
15	150	27	9	33.3
16	180	27	9	33.3

Ajuste lineal. % negativización = $83.4 - \text{tiempo} \times 4.4\%$

$r = -0.97$; $p < 0.001$

En la tabla XIX se presentan los porcentajes de recolonización durante el tiempo de seguimiento, que son los opuestos a los anteriores. Estos se evaluaron como recidiva (misma cepa que la inicial) (tabla XX) o como reinfección (distinta cepa que la original) (tabla XXI). Se muestra un porcentaje de recolonización de 43% (11% reinfección y 32% recidiva) a los 28 días de seguimiento (muestra 10); 55% (15% reinfección y 41% recidiva) entre los 60 y 120 días (muestras 12, 13 y 14) y 67% (19% reinfección y 48% recidiva) a los 180 días (muestra 16). En la figura 21 se recoge la evolución temporal de estos indicadores de respuesta negativa.

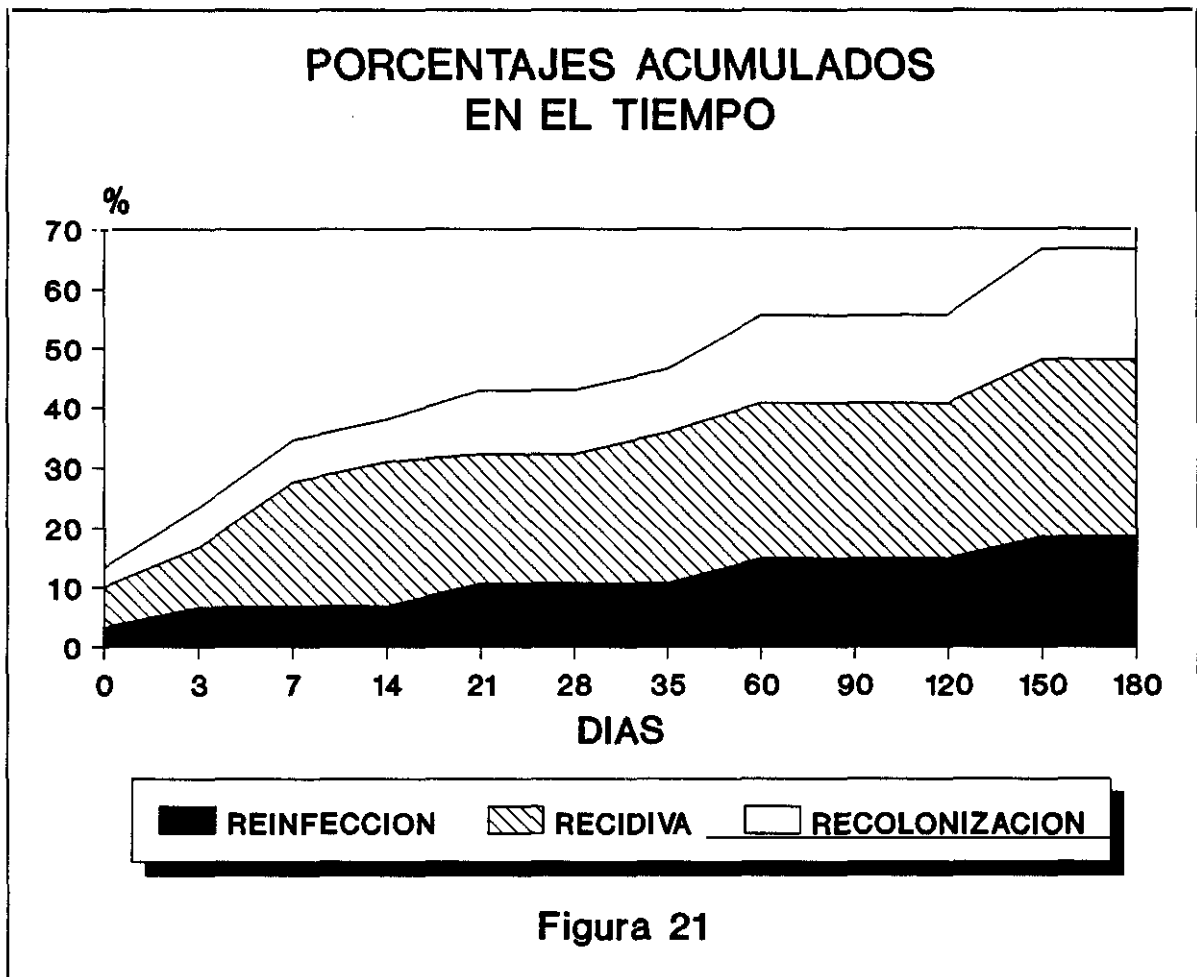


Figura 21. Porcentajes acumulados en el tiempo

Tabla XIX. Porcentajes acumulados de recolonización a los tiempos establecidos para el grupo experimental

Muestra	Tiempo (días)	n	n° de portadores	%
05	0	30	4	13.3
06	3	30	7	23.3
07	7	29	10	34.5
08	14	29	11	37.9
09	21	28	12	42.8
10	28	28	12	42.9
11	35	28	13	46.4
12	60	27	15	55.5
13	90	27	15	55.5
14	120	27	15	55.6
15	150	27	18	66.7
16	180	27	18	66.7

Ajuste lineal. % recolonización = $16.6 + \text{tiempo} \times 4.4\%$

$r = 0.98$; $p < 0.001$

Tabla XX. Porcentajes acumulados de recidiva a los tiempos establecidos para el grupo experimental

Muestra	Tiempo (días)	n	n° de portadores	%
05	0	30	3	10.0
06	3	30	5	16.7
07	7	29	8	27.6
08	14	29	9	31.0
09	21	28	9	32.1
10	28	28	9	32.1
11	35	28	10	35.7
12	60	27	11	40.7
13	90	27	11	40.7
14	120	27	11	40.7
15	150	27	13	48.1
16	180	27	13	48.1

Ajuste lineal. % recidiva = 13.8 + tiempo x 3%

r = 0.95; p < 0.001

Tabla XXI. Porcentajes acumulados de reinfección a los tiempos establecidos para el grupo experimental

Muestra	Tiempo (días)	n	n° de portadores	%
05	0	30	1	3.3
06	3	30	2	6.7
07	7	29	2	6.9
08	14	29	2	6.9
09	21	28	3	10.7
10	28	28	3	10.7
11	35	28	3	10.7
12	60	27	4	14.8
13	90	27	4	14.8
14	120	27	4	14.8
15	150	27	5	18.5
16	180	27	5	18.5

Ajuste lineal. % reinfección = 2.8 + tiempo x 1.33%

r = 0.98; p < 0.0001

Al finalizar el período de seguimiento, en el grupo experimental, se evaluaron 27 sujetos. De ellos, 9 (33.3%) permanecían libres de colonización nasal por *S.aureus*, 10 (37% habían presentado recidiva, 5 (18.5%) reinfección y 3 (11.1%) persistencia. En el grupo control, de los 32 sujetos evaluables, 2 (6.3%) permanecieron negativos tras 180 días de seguimiento, 1 (3.1%) había presentado recidiva y 29 (91.6%) fueron evaluados como persistencia (muestra 5 positiva). En la figura 22 se presentan los resultados de la evaluación al final del seguimiento. Existe una diferencia estadísticamente significativa en la erradicación a los 180 días de seguimiento entre el grupo experimental y el grupo placebo ($p < 0.001$).

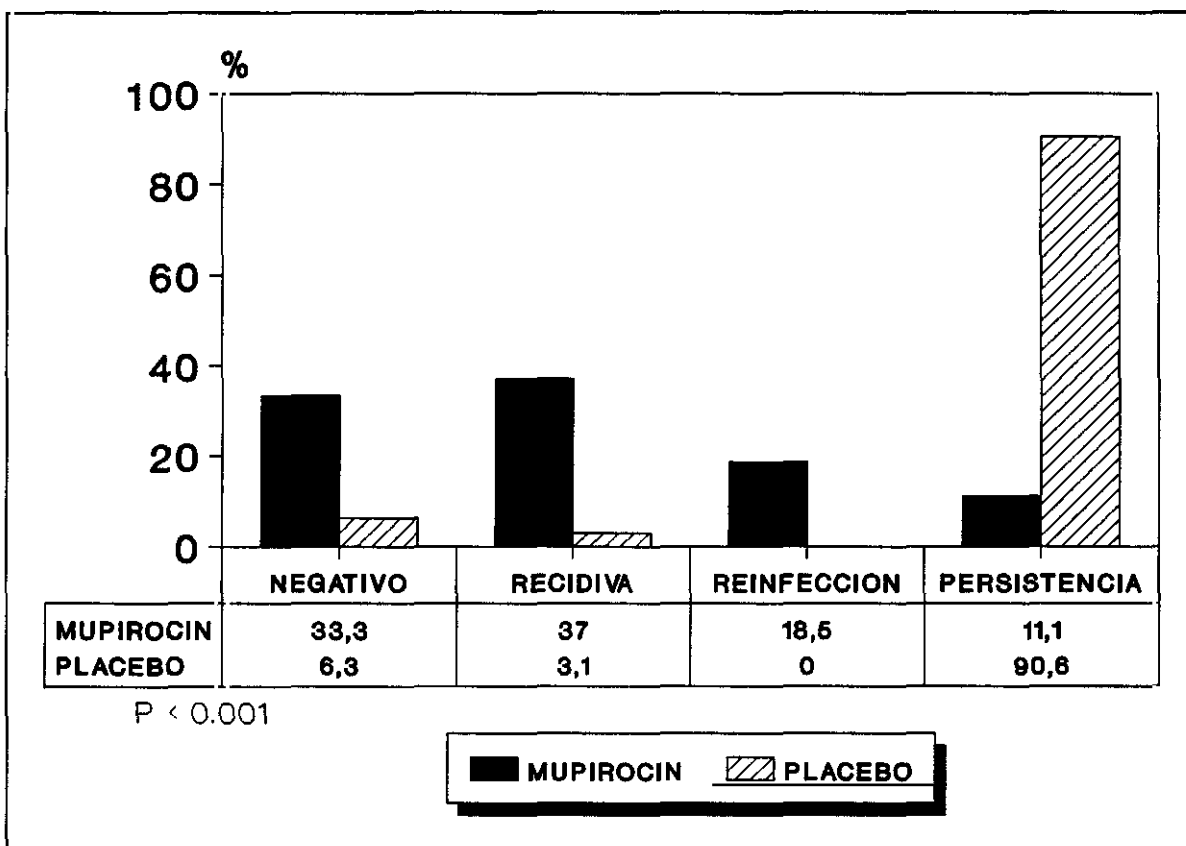


Figura 22. Evaluación tras 6 meses de seguimiento por grupo de estudio

5.4. EFECTOS ADVERSOS

La relación de efectos adversos en los sujetos del grupo experimental se detalla en la tabla XXII. Ocho sujetos presentaron algún efecto adverso. En total se contabilizaron 13 efectos adversos, de intensidad leve en 4, moderado en 7 y severa en 2. Excepto uno probablemente relacionado, que consistió en sabor amargo, el resto fue considerado como no relacionado.

En el grupo control (tabla XXIII), 2 sujetos presentaron 3 efectos adversos de intensidad leve en uno, y moderada y severa en el otro. Se clasificaron 2 como probablemente relacionados, la presencia de prurito nasal y un fenómeno de reacción alérgica con hinchazón de rostro, lengua y manos, aparecido después de la tercera dosis, que obligó a romper el doble ciego y a que el sujeto abandonase el estudio.

Tabla XXIII. Relación de efectos adversos en los sujetos del grupo experimental

N° Sujeto	Descripción	Día *1	Evento basal	Intensidad	Curso	Acción tomada	Resultado	Relación *2
7	Hinchazón manos	6	No	Severa	Continuo	No	Tratamiento	No relac.
7	Molest.faringeas	5	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
7	Dolor piernas	5	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
9	Prurito nasal	2	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
9	Epistaxis	2	No	Leve	Aislado	No	Resuelto	No relac.
28	Sabor amargo	2	No	Leve	Aislado	No	Resuelto	Prob.rela.
38	Proceso catarral	1	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
38	Dolor garganta	1	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
38	Ronquera	2	No	Moderada	Continuo	No	Resuelto	No relac.
41	Proceso catarral	4	No	Leve	Continuo	No	Continúa	No relac.
42	Proceso catarral	4	No	Leve	Continuo	No	Resuelto	No relac.
47	Tumor mama	Previo	No	Severa	Continuo	No	Continúa	No relac.
53	Ciática	Previo	Si	Moderada	Continuo	No	Continúa	No relac.

*1 Días transcurridos desde el inicio del tratamiento con mupirocín

*2 Según investigador

Tabla XXIII. Relación de efectos adversos en los sujetos del grupo control

n° Sujeto	Descripción	Día *1	Evento basal	Intensidad	Curso	Acción tomada	Resultado	Relación *2
15	Hinchazón manos cara y lengua	2	No	Severa	Continuo	Si*3	Resuelto	Prob.rela.
15	Diarrea	2	No	Moderada	Aislado	Si*3	Resuelto	No relac.
18	Prurito nasal	1	No	Leve	Intermitente	No	Resuelto	Prob.rela.

*1 Días transcurridos desde el inicio del tratamiento con mupirocín

*2 Según investigador

*3 Tratamiento interrumpido. Código abierto (placebo)

DISCUSSION



1. EFICACIA DEL PROGRAMA DE CONTROL

El screening activo para la detección de portadores asintomáticos de SARM entre personal hospitalario y pacientes, supone un coste adicional importante, tanto en el personal que se ha de dedicar a la toma de muestras, como en técnicas de laboratorio y tratamiento de los portadores, sin tener en cuenta que, ante la detección de nuevos afectados por el brote, se incrementa el número de pacientes que requieren aislamiento, con el considerable problema hospitalario. La realización conjunta de esta medida con otras (aislamiento, uso de antisépticos, precauciones higiénicas) en los brotes descritos (16, 52, 54, 61, 92, 143, 195) complican la evaluación de su eficacia en el control de brotes.

Esto llevó a que en el HUSC no se iniciara la detección de portadores asintomáticos entre personal y pacientes hasta un año después de la aparición de los primeros casos de SARM, y ante la situación de que, controlando únicamente a los pacientes infectados, no se consiguiera frenar el brote.

Los datos obtenidos en este estudio soportan la hipótesis de la eficacia para el control de brotes de infección nosocomial por SARM de la actuación (detección y tratamiento) en los portadores asintomáticos. La curva epidémica refleja la eficacia del programa de control, ya que, a partir del inicio del programa completo con actuación en portadores asintomáticos, la incidencia acumulada se ajusta a una línea, con pendiente de -0.8 ($y = 17.2 - 0.8x$), lo que indica que la puesta en marcha del programa desde Noviembre de 1990 supuso disminuir en un 0.8 por mil ingresos la incidencia de SARM por cada mes de control, llegándose a una situación endémica baja de base, que se mantiene actualmente (incidencia acumulada mensual de infección $< 5/1000$). Otro dato que apoya la importancia de la actuación en portadores asintomáticos es la proporción de pacientes portadores detectados

respecto al total de pacientes afectados en el brote (43% entre Noviembre de 1989 y Octubre de 1992).

Algunos hospitales consideran la introducción de SARM como una evolución natural e inevitable de los patrones de sensibilidad-resistencia antibiótica de los microorganismos, y, dado que la virulencia de SARM no difiere de la de otras cepas de *S.aureus* sensibles a la meticilina, argumentan que no resulta útil ni necesario dedicar esfuerzos especiales a su control. En otros centros, la introducción de SARM se acepta como una derrota, sin oponer una mínima resistencia (100). En definitiva, no existe un acuerdo acerca de si es o no necesario dedicar esfuerzos al control de las infecciones por SARM (193).

En este brote, el programa de screening activo coincidió exactamente con la reducción en el número de pacientes nuevos infectados y con el control del brote, lo que parece indicar que la actuación correcta es la realización de todas las medidas de control, ya que si no se actúa conjuntamente sobre los tres reservorios principales : pacientes infectados - pacientes colonizados - personal colonizado, probablemente aunque se dedique esfuerzo y medios económicos no se logrará controlar el brote. Parece razonable mantener esta actuación no solo en caso de brote, sino también en hospitales con situación endémica, para prevenir la diseminación y ocurrencia de brotes. En concordancia con esta afirmación, en una evolución económica del brote de infección por SARM del HUSC, Palau (145) aproxima el coste por caso a 150000 pts. y concluye la necesidad de mantener las medidas de control, entre ellas el estudio sistemático de portadores asintomáticos entre personal y pacientes.

De acuerdo con la experiencia de autores americanos y europeos (25, 134, 147, 178, 193), aquellos hospitales que han sufrido brotes epidémicos por SARM con un número importante de casos (mas de 50), mantienen una situación endémica muchos años

después. Menos del 15% de los centros de más de 500 camas consiguen, a pesar de la instauración de las medidas de control, erradicar el SARM (28), sin embargo, los niveles endémicos de infección que se consiguen son indicadores de la efectividad de las medidas. Por tanto, parece razonable pensar que, ante la aparición de un caso de SARM, en hospitales que no hayan tenido problemas con este microorganismo, la instauración del programa de control completo, podrá evitar situaciones posteriores difíciles de controlar.

2. PAPEL DEL PERSONAL HOSPITALARIO EN LA TRANSMISION DEL BROTE

La prevalencia de personal hospitalario portador nasal de SARM en brotes de infección nosocomial por este microorganismo oscila, en distintos estudios entre el 0 (120) a más del 50% (131), pero cifras bajas, similares al 3,6% obtenido en este estudio, son las más frecuentemente descritas (26, 50, 52, 54, 61, 104, 147, 189).

En un estudio realizado en el HUSC, en 1987, previo al inicio del brote (227), se investigó la presencia de SARM en las fosas nasales de 738 trabajadores, no encontrándose ningún portador. La prevalencia encontrada durante el brote, que supuso en cifras absolutas, la presencia durante el año 91, de 72 trabajadores que estuvieron colonizados en alguna ocasión por SARM, supone un importante reservorio hospitalario de este microorganismo, si no se actúa para eliminar la colonización.

Muchos investigadores han implicado al personal hospitalario como vehículo para la diseminación de patógenos nosocomiales de paciente a paciente (142), en este estudio se demuestra el potencial para diseminación nosocomial de SARM que representa el personal hospitalario.

En cuanto a la colonización cutánea, se realizaron tomas de

las manos del personal hospitalario únicamente cuando existían eczemas u otras lesiones cutáneas, ya que la presencia de SARM en las manos no lesionadas, es aclarada con el simple lavado de manos (189), siendo sin embargo, mas difícil la eliminación del reservorio nasal o de la piel lesionada. En nuestra serie, solo dos trabajadores presentaron colonización cutánea, y ambos presentaban colonización nasal coexistente, por lo que enfatizamos en la importancia del reservorio nasal, si bien, las manos, permanentemente colonizadas en lesiones eczematosas, representan un mayor riesgo de diseminación.

En este aspecto, el lavado de manos repetido, con jabón antiséptico (clorhexidina o povidona yodada), puede producir irritación en algunas personas y dar lugar a un mayor riesgo de colonización, por lo que es necesario el esmerado cuidado de las manos en personal que deba lavarse con frecuencia y utilizar jabones con antisépticos.

La prevalencia de portadores nasales de SARM fue significativamente mayor en enfermeras y auxiliares de clínica que en médicos, celadores, u otros puestos de trabajo. Esta mayor prevalencia en las enfermeras ha sido descrita por otros autores (47, 104, 142) y la adquisición de colonización por SARM se ha relacionado con contacto cercano con el paciente, especialmente, con el cuidado de heridas infectadas o colonizadas (47), y en mucha menor medida con la estancia en habitaciones contaminadas o contacto menor con pacientes. La vía aérea puede ser importante como vía de colonización en el personal en fisioterapia y en el cuidado de pacientes con dermatitis exfoliativa (47).

En cuanto a la distribución por áreas hospitalarias del personal colonizado, la prevalencia fue mayor en las plantas 4ª Sur y 6ª Norte, donde se encuentran dos servicios (Geriatría y Medicina Interna) donde se acumulan pacientes crónicos con estancias largas, y que se han visto muy afectados por el brote.

En la distribución temporal, existió un paralelismo entre la curva epidémica de pacientes infectados y la frecuencia de colonización nasal en personal hospitalario (fig 7).

De estos datos sobre la distribución por puesto de trabajo, área de trabajo y tiempo del personal hospitalario con colonización por SARM, se refleja que en los momentos en que en una zona hospitalaria hay mas enfermos con SARM, aumenta el número de trabajadores colonizados, fundamentalmente personal con contacto cercano con el paciente. Este hecho, que en principio refleja probablemente, una contaminación del personal a partir de la fuente enfermo infectado/colonizado, puede convertirse en el sistema opuesto, actuando el personal colonizado como reservorio y medio de transmisión de SARM a otros pacientes ingresados en la zona, manteniéndose el foco. La existencia de personal hospitalario sin área fija de trabajo, que cambia constantemente de destino y los traslados pueden llevar a la diseminación del microorganismo.

El 95% de los aislamientos de SARM procedentes del personal hospitalario se correspondían (antibiotipia y fagotipia) con la cepa epidémica causante del brote, lo que corrobora el papel del personal en la diseminación del brote.

El control del personal hospitalario en un hospital grande, con el número de pacientes infectados que había en el momento en que se inició el screening, lo que llevaba a tener que muestrear a un importante número de empleados, dio lugar a muy diferentes reacciones en el personal. En un principio, la respuesta era baja, siendo necesario insistir repetidamente para que el personal acudiera al screening. Posteriormente, con el auge del brote en los medios de comunicación y la forma alarmista en que se presentó (145), aumentó la respuesta, añadiéndose además un importante número de empleados que solicitaban el screening, sin que hubiera indicación epidemiológica, por temor al SARM, o ante

cualquier sintomatología (no relacionada) que les parecía sospechosa, en muchas ocasiones no solo para ellos sino también para sus familiares. Este hecho requirió un importante esfuerzo informativo por parte del S. de Medicina Preventiva para eliminar el temor suscitado en gran parte de trabajadores. Por último, una vez instruido el personal y desaparecido el tratamiento alarmista del tema, se encontró una respuesta profesional a la llamada al screening en la mayoría de los casos, aunque es inevitable la existencia de trabajadores que sistemáticamente eluden el screening.

En la comparación de la prevalencia de portadores nasales en tres grupos definidos de personal hospitalario (fig 9), se ha obtenido una mayor prevalencia, siendo la diferencia estadísticamente significativa, en el grupo de personal hospitalario que había sido colonizado previamente por SARM, tratado y negativizado, que en el grupo de trabajadores muestreados por indicación epidemiológica o que en el grupo control constituido por trabajadores que acuden a la consulta de Salud Laboral sin relación con el brote, y no colonizados previamente. Entre estos últimos no se encontró ningún portador.

Este hallazgo puede indicar que los dos controles postratamiento realizados son insuficientes, (a pesar de que se realizó exudado nasal y faringeo) necesitándose por tanto ampliar el seguimiento de los trabajadores colonizados después del tratamiento antes de considerarlos negativizados, y podría relacionarse con la teoría de que determinadas cepas de *S.aureus* parecen adaptarse a determinados huéspedes y así, el estado de portador puede depender de la interacción entre cepa y huésped (200). Tal vez hay una población dentro del personal hospitalario con una mayor predisposición a adquirir la cepa epidémica, que podría constituirse en reservorio, y que debe ser vigilada periódicamente mientras dure el brote o la situación endémica de SARM.

3. METODOLOGÍA MICROBIOLÓGICA PARA LA DETECCIÓN DE PORTADORES NASALES DE SARM

En los brotes de SARM descritos, la metodología utilizada para el diagnóstico de portadores ha sido variada. Desde autores que utilizan ágar sangre, y a partir de allí, realizan la identificación y la detección de la sensibilidad a meticilina por medios estandarizados (143, 193), hasta la utilización de medios dirigidos al diagnóstico directo como ágar manitol sal con 5 mg de meticilina/litro (47). El ágar manitol-sal con oxacilina incorporado ha sido evaluado en otros trabajos con resultados satisfactorios (108, 109). Otros autores utilizan un medio selectivo de *S.aureus* (generalmente ágar manitol-sal), y a partir de allí la realizan la identificación y detección de la sensibilidad a la meticilina (117, 132, 142). También se ha utilizado para la siembra directa ágar sangre o ágar manitol con discos de antibióticos, que se utilizan como marcador de resistencia, de manera que las colonias que crecen alrededor del disco son las que se estudian (52, 54, 61).

La adición de un caldo nutritivo, en ocasiones suplementado con cloruro sódico, para aumentar la sensibilidad diagnóstica, ha sido utilizado en varios brotes (47, 54, 61, 94). Las guías de Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy (11) recomiendan la utilización de un caldo nutritivo para aumentar la sensibilidad diagnóstica y de placas con 4 mcg/ml de meticilina para aumentar la rapidez, aun a pesar de que inóculos pequeños de SARM puedan ser inhibidos.

En este estudio, hemos comparado dos medios selectivos para la detección de *S.aureus* en la siembra directa (ágar Baird Parker y ágar manitol), y hemos valorado si la adición de un caldo nutritivo aumenta la sensibilidad diagnóstica y la eficacia de un medio con oxacilina incorporado (ágar MRSA) para la detección de SARM en la siembra directa.

La sensibilidad para la detección de *S.aureus* (proporción de sujetos colonizados en los que se detectó la colonización en ese medio de cultivo) fue ligeramente superior en el ágar manitol que en el ágar Baird-Parker, sin que esta diferencia fuera significativa, sin embargo la especificidad (proporción de sujetos no colonizados en los que no crecen colonias característica de *S.aureus* en el medio) fue significativamente mayor en el ágar Baird Parker que en el ágar manitol.

El valor predictivo positivo indica la proporción de sujetos colonizados en los que se obtiene crecimiento de colonias características en el medio respecto al total de sujetos colonizados o no, en los que se han detectado colonias características en el medio, o la probabilidad condicional de estar colonizado si se encuentran colonias características en el medio de cultivo. El valor predictivo negativo indica la proporción de sujetos no colonizados sin crecimiento de colonias características en el medio respecto al número total de sujetos en los que no crecen colonias características en ese medio, o la probabilidad condicional de no ser portador si en ese medio no ha crecido *S.aureus*. El ágar Baird Parker presentó mayor valor predictivo positivo y menor valor predictivo negativo que el ágar manitol.

El cociente de probabilidades de una prueba positiva (LR+) es el cociente entre la sensibilidad y el complementario de la especificidad (1-especificidad), e indica el número de veces que es mas frecuente el resultado positivo en el enfermo que en el sano (153), en este caso el número de veces que es mas frecuente encontrar colonias características de *S.aureus* en un determinado medio en el sujeto colonizado que en el no colonizado, por tanto será mejor cuanto mas alto sea. El cociente de probabilidades de una prueba negativa (LR-), es el cociente entre el complementario de la sensibilidad (1-sensibilidad) y la especificidad (153), o el cociente entre la probabilidad de que

la prueba de negativa en el enfermo y la probabilidad de que de negativa en el sano, en este caso entre la probabilidad de que no haya crecimiento de *S.aureus* en sujetos colonizados y en sujetos no colonizados, por tanto será mejor cuanto mas se aproxime a 0. El cociente de probabilidades tiene la ventaja de que evalúa tanto la sensibilidad como la especificidad. En este caso, el LR+ ha sido mayor en el ágar Baird-Parker que en el ágar manitol (100/14.8) y el LR- ha sido menor en el ágar manitol que en el ágar Baird-Parker (0.35/0.40).

Estos datos obtenidos en la comparación de los dos medios selectivos de *S.aureus*, indican que, si se utiliza ágar manitol en lugar de ágar Baird-Parker, se van a recoger una mayor proporción de *S.aureus*, pero se van a estudiar muchas mas veces colonias "características" de *S.aureus*, que luego no van a serlo.

La adición de un caldo nutritivo aumentó significativamente la sensibilidad, tanto si se utiliza ágar manitol como ágar Baird Parker, aumentó también el valor predictivo negativo y disminuyó el LR-, en definitiva, la adición de un caldo nutritivo aumenta claramente la eficacia diagnóstica. Sin embargo, la utilización de un caldo nutritivo duplica tanto el trabajo como el coste de la prueba, y además el diagnóstico a partir del mismo se retrasa 24 horas, y esto debe tenerse en cuenta a la hora de planificar un programa de screening.

En cuanto a la utilización de un medio con antibiótico incorporado para detectar SARM en la siembra directa (ágar MRSA), hemos obtenido una sensibilidad del 33.3%, lo que quiere decir que de cada tres portadores de SARM, solo uno sería diagnosticado si solo utilizáramos el ágar MRSA, por lo tanto, es obvio que no deberá utilizarse este medio sin otros que aumenten la sensibilidad diagnóstica. La ventaja del ágar MRSA es que permite dar el resultado a las 24 horas de la toma de la muestra, y esto es de gran importancia en programas de control de infección. El

valor predictivo positivo de este medio de 71.4 (38.0-100), nos permite aceptar el inicio del tratamiento en los sujetos en los que de positiva la prueba, con la posibilidad de tener que retirarlo si no se confirma el diagnóstico, en los casos en que convenga un control rápido de los portadores, mas teniendo en cuenta que el tratamiento que utilizamos (mupirocín) es tópico y no presenta efectos secundarios.

El ágar MRSA tiene una gran fiabilidad para detección de la resistencia a la meticilina cuando el inóculo es controlado (138, 177), pero el problema desde el punto de vista microbiológico de su utilización en la siembra directa del exudado nasal es que inóculos pequeños de SARM son inhibidos, disminuyendo la sensibilidad diagnóstica, e inóculos grandes de *S.aureus* sensible a la meticilina pueden crecer, disminuyendo el valor predictivo positivo. El hecho de que inóculos pequeños de SARM puedan inhibirse en este medio ha sido ya descrito (11).

Diferentes autores han estudiado la utilidad de incorporar oxacilina a un medio selectivo de *S.aureus*, generalmente ágar manitol (108, 109, 127, 201), con resultados satisfactorios. En este estudio se ha utilizado ágar Mueller-Hinton, en lugar de un medio selectivo de *S.aureus*, con oxacilina, con objeto de valorar la utilidad de la incorporación del antibiótico al medio, sin que interfiriera la eficacia diagnóstica del medio base selectivo.

A la vista del tratamiento estadístico de los resultados obtenidos, nuestra recomendación sobre los medios de cultivo a utilizar en programas de screening de portadores nasales de SARM en brotes de infección hospitalaria es :

- Ante un brote grande, a nivel hospitalario, en el que se maneje un gran número de muestras, utilizar ágar Baird Parker como medio selectivo de *S.aureus* y determinar posteriormente la sensibilidad a la meticilina, y ágar MRSA para aumentar la

rapidez diagnóstica en una proporción de casos.

- Ante brotes pequeños, en los que manejemos menor número de casos, y sobretodo si se producen en zonas críticas, o en el inicio de un brote, utilizar mejor ágar manitol que Baird Parker, y en cualquier caso añadir un caldo nutritivo. Como en el caso anterior, la utilización de ágar MRSA aumentará la rapidez diagnóstica en una proporción de casos.

- En las tomas postratamiento en sujetos colonizados para comprobar la negativización, utilizar ágar manitol y un caldo nutritivo. En este caso no tiene objeto utilizar ágar MRSA, ya que antes de desaislar al paciente habrá que esperar a tener el resultado obtenido en los otros medios de cultivo.

4. MUPIROCIN EN PORTADORES NASALES DE SARM

Mupirocín eliminó la colonización nasal por cepas sensibles de SARM en el 83% de los pacientes a la finalización del tratamiento, manteniéndose el 75% libres de colonización nasal por SARM después de tres semanas de seguimiento. En el personal hospitalario la eficacia postratamiento fue del 96%.

Redhead (161) en una publicación sobre la eficacia de mupirocín en la erradicación de la colonización nasal en brotes por SARM en 102 hospitales británicos, encuentra una eficacia postratamiento del 97.0% sobre 628 sujetos tratados. Otros autores han obtenido resultados similares con porcentajes de eliminación postratamiento superiores al 90% (40), y del 100% tanto en pacientes como en personal hospitalario (92). En nuestro estudio, si se considera el grupo de pacientes con colonización únicamente en las fosas nasales, la eficacia del tratamiento fue del 100%. Sin embargo, cuando hay además colonización en otras zonas del cuerpo, o infección asociada, la tasa de respuesta al tratamiento con mupirocín disminuye al 75%.

Las recolonizaciones por SARM constituyen un importante problema en el control de brotes, y obligan a mantener una actitud de vigilancia en los pacientes que han sido colonizados y permanecen ingresados, así como en el personal hospitalario que ha sido colonizado. Cederna y cols. (40) encuentran recolonización a 1 y 2 meses de seguimiento en 14 de 39 pacientes tratados con mupirocín y de los que el 91.4% se habían negativizado al finalizar el tratamiento. Kauffman y cols. (101) trataron 65 pacientes crónicos colonizados con SARM con mupirocín, consiguiendo la eliminación postratamiento en la mayoría de ellos, pero con una tasa de recurrencia del 40%. Cuando trataron también las heridas contaminadas disminuyó la tasa de recolonización. En un estudio de Hill (92) en personal hospitalario colonizado por SARM, de 32 sujetos tratados y negativizados, 5 (15.6%) se recolonizan en intervalos entre 2 y 12 semanas después de finalizar el tratamiento. En el mismo estudio, 4 de 40 pacientes tratados se recolonizan entre 1 y 5 semanas de seguimiento.

En nuestro estudio, a las tres semanas de seguimiento de 59 pacientes disponibles, 14 (25%) presentaban SARM en las fosas nasales. Si consideramos separadamente los pacientes con colonización nasal exclusivamente, esta cifra baja al 8%, y sin embargo en pacientes con colonización en otras zonas o con infección asociada aumenta al 29% y 35% respectivamente. Por tanto parece que la colonización de otras zonas o la infección asociada constituyen una fuente para la recolonización de las fosas nasales. El estudio de Kauffman (101), en el que se obtuvo una alta tasa de recurrencias, se realizó en un hospital de cuidados de pacientes crónicos, y este tipo de pacientes con frecuencia presentan alteraciones cutáneas y escaras fácilmente colonizables.

La tasa de respuesta al tratamiento fue ligeramente inferior en pacientes colonizados por cepas con bajo nivel de resistencia

a mupirocín que por cepas sensibles, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Otros autores han tratado con buena respuesta la colonización nasal por cepas SARM con bajo nivel de resistencia (101, 161). Probablemente la respuesta ligeramente menor encontrada en nuestro estudio en las cepas con bajo nivel de resistencia se haya visto influida por la colonización asociada en otras zonas del cuerpo, mas frecuente en pacientes de larga estancia, en los que se concentraron estas cepas de bajo nivel de resistencia (76).

5. RESISTENCIA A MUPIROCIN

El uso tópico de cualquier antibiótico ha sido relacionado constantemente con la aparición de resistencia, con el considerable problema cuando se trata de un antibiótico disponible para uso sistémico y con el potencial de poder salvar la vida (95). Mupirocín es un antibiótico destinado exclusivamente a uso tópico, carece de resistencia cruzada con otros antibióticos y la selección in vitro de cepas resistentes es baja (182). Estas propiedades parecen ser útiles en la práctica clínica y disminuir el problema de otros antibióticos tópicos.

El mecanismo bioquímico de resistencia mas común parece ser la producción de isoleucil-tRNA sintetasa modificada (69, 80). Udo y cols. (198) demuestran en seis aislamientos con alto nivel de resistencia la presencia de un plásmido codificando la resistencia a mupirocín, tetraciclina, trimetoprim y cadmio.

La resistencia de *S.aureus* a mupirocín ha sido raramente descrita antes de 1992. Rauss y cols. (156) comunican un 100% de actividad de mupirocín frente a 200 aislamientos de *S.aureus* en Francia en 1991; en un estudio multicéntrico en el Reino Unido publicado en 1990 (46), 23 de 7137 (0.3%) aislamientos de *S.aureus* fueron resistentes a mupirocín, (4 de ellos presentaron

alto nivel de resistencia). Entre estafilococos coagulasa negativa, la resistencia fue del 3% sobre 1083 aislamientos. En España (126), en una vigilancia sobre 1500 aislamientos clínicos de *S.aureus* recogidos de 94 hospitales entre 1979 y 1992, incluyendo 1400 casos esporádicos (15% de SARM) y 100 de brotes (65% de SARM), la CIM₉₀ fue 0.12 mcg/ml, no variando de 1979 a 1992. En EEUU (85) se comunica en 1991 un 1% de resistencia (no especifican el nivel de resistencia) en 1309 aislamientos nasales de *S.aureus*.

La aparición del alto nivel de resistencia generalmente se ha asociado con pacientes dermatológicos, recibiendo tratamientos prolongados con mupirocín para lesiones cutáneas infectadas (95). Estos pacientes pueden ser el reservorio de estas cepas y a partir de ellos producirse la diseminación.

Recientemente, se han descrito aislamientos con alto nivel de resistencia (CIM >512 mcg/ml) en Australia (198), y en el Reino Unido (43, 55). Este último, describe dos brotes, el primero por una cepa de SARM con bajo nivel de resistencia a mupirocín y el segundo por una cepa con alto nivel de resistencia. Chatfield (43) describe el hallazgo de *S.aureus* con alto nivel de resistencia a mupirocín en al menos una localización en 32 de 36 niños con eczema, 20 de 31 niños sin eczema y 3 trabajadores, de una escuela especial para niños con eczema, asma o fibrosis quística, después del uso de mupirocín para el tratamiento de las lesiones eczematosas. Las localizaciones de los aislamientos fueron fosas nasales, axila, periné y lesiones cutáneas. Ambos autores enfatizan la necesidad de monitorizar el extensivo uso de mupirocín y de determinar la actividad de este antimicrobiano frente a los aislamientos de *S.aureus*.

En nuestro estudio, ninguna cepa ha mostrado alto nivel de resistencia, y el bajo nivel de resistencia entre los

aislamientos de SARM, se ha mantenido entre el 3% y el 4.6% en el año 92 y 93, después de haber tenido casi un 13% en 1991. Durante el año 94 el 29% de los aislamientos procedentes de exudados nasales o faringeos y cutáneos presentaron bajo nivel de resistencia. No tenemos suficientes datos para valorar si este aumento está en relación con el uso del antimicrobiano en tratamientos dermatológicos o en aplicaciones nasales, pero parece que la diseminación de una cepa con bajo nivel de resistencia es el mecanismo principalmente implicado, ya que el 60% de los pacientes en que se aisló SARM con bajo nivel de resistencia a mupirocín no tenían aislamientos previos sensibles a mupirocín.

En el HUSC para evitar la emergencia del alto nivel de resistencia se controla el uso de este antimicrobiano tanto en tratamientos dermatológicos como nasales, evitando tratamientos irregulares o repetitivos, en pacientes colonizados en otras zonas con fracaso del tratamiento nasal o recolonización.

6. ENSAYO CLINICO RANDOMIZADO CONTROLADO CON PLACEBO DE MUPIROCIN CALCICO EN LA ERRADICACION DE LA COLONIZACION NASAL POR S.AUREUS

Los resultados de este ensayo demuestran la actividad in vitro de mupirocín frente a *S.aureus*, y su utilidad en la erradicación de la colonización nasal (87% de erradicación muestral y 77.3% de diferencia con el grupo placebo) (71).

Reagan y cols. (158), publicaron que la administración de mupirocín cálcico en pomada intranasal por 5 días, redujo significativamente la colonización nasal y de las manos. La proporción de cultivos positivos para *S.aureus* de las manos a las 48-72 horas de terapia con mupirocín fue significativamente menor que después de la aplicación de placebo. La diferencia en la tasa de eliminación de la colonización de las manos fue del 53% entre ambos grupos. Este hallazgo sugiere que las fosas nasales son el

principal reservorio de *S.aureus* para la colonización persistente de las manos.

En un reciente análisis de 6 seis ensayos clínicos realizados en EEUU sobre la eficacia de mupirocín, las tasas de erradicación oscilaron entre 68% y 100% (media de 91%) frente a 1%-13% (media de 6%) en los grupos que recibieron placebo (60), al finalizar un tratamiento de 5 días con dos dosis diarias, resultados que concuerdan con los obtenidos en este ensayo.

Casewell y Hill (38), publicaron el primer ensayo clínico sobre la eficacia de mupirocín en la eliminación de la colonización nasal por *S.aureus*. Obtuvieron una importante disminución en la densidad de colonización tan solo después de una dosis de mupirocín en 24 de 32 sujetos, y obtuvieron la eliminación de la colonización en el 84% y 100% de los sujetos a las 24 y 48 horas de iniciado el tratamiento, con una pauta de 4 aplicaciones de pomada al día, doble a la utilizada en nuestro ensayo y en los ensayos realizados en Estados Unidos. En nuestro ensayo, la capacidad de eliminar la colonización después de 4 dosis (a las 48 horas de iniciado el tratamiento) fue del 58%, y a las 24 horas de tratamiento (después de 2 dosis), solo el 10% de los portadores se habían negativizado, pero en mas del 60% se observaba un número escaso de colonias (crecimiento solo en el caldo nutritivo o menos de 50 UFC/placa).

Un punto importante en la eficacia de mupirocín cuando se utiliza en tratamiento del personal hospitalario en brotes de infección nosocomial por SARM es el momento de la reincorporación al trabajo. Casewell y Hill (39) han investigado la dosis mínima para eliminar la colonización nasal en 44 portadores estables de *S.aureus*, encontrando que una sola dosis de mupirocín fue tan efectiva como 4 dosis/día durante dos días para la eliminación de la colonización nasal por *S.aureus* (92% y 96% respectivamente a los 7 días de seguimiento). Nuestros resultados no concuerdan

con éstos ya que después de 2 dosis, solo el 10% de los sujetos se habían negativizado, por lo que no podemos recomendar pautas cortas de tratamiento. Sin embargo es importante destacar la disminución en la densidad de colonización conseguida con las primeras dosis de tratamiento, significativa respecto al grupo placebo, que probablemente reduzca el riesgo de transmisión del microorganismo. Por tanto, aunque recomendamos mantener el tratamiento un mínimo de cinco días, la incorporación al trabajo a las 24 horas de su inicio (4 dosis con una pauta de 3 aplicaciones/día), tendrá una repercusión económica baja y parece ofrecer la suficiente garantía en cuanto a la prevención de transmisión del patógeno.

De los resultados de este ensayo, se deduce que en estudios sobre la actividad de mupirocín en la erradicación de la colonización nasal por *S.aureus*, se debe contemplar la utilización de medios de cultivo con neutralizante del poder inhibitorio del antimicrobiano residual para los cultivos realizados durante el tratamiento o inmediatamente después de su finalización. Esto se consigue añadiendo charcoal activado al medio de cultivo, y su utilidad para recuperar *S.aureus* expuestos a mupirocín fue descrita por Barr en 1987 (14). En nuestro ensayo no se hubieran recuperado el 52% de los aislamientos de las muestras recogidas durante o inmediatamente después de finalizar el tratamiento sin la utilización de ágar charcoal. Esto implica que hubiera cambiado la evaluación en 16 de los 32 sujetos. De éstos, en 14 la negativización de la colonización se hubiera valorado con menos dosis de las realmente necesarias, y dos sujetos que han sido evaluados como persistencia de la colonización (primera muestra postratamiento positiva), se hubieran evaluado como eliminación de la colonización tras el tratamiento, ya que el crecimiento de *S.aureus* en la muestra postratamiento se recuperó únicamente en el ágar charcoal y no en los otros medios de cultivo empleados. Esto habría llevado a obtener una falsa tasa de eliminación postratamiento un 6.6%

superior a la real. La diferencia entre los resultados de nuestro ensayo y del anteriormente publicado por Casewell y Hill (38) pueden explicarse en parte por la utilización de ágar charcoal en nuestro ensayo, así como por la diferente pauta de aplicaciones.

Otro punto importante a valorar en un antimicrobiano dirigido a erradicar colonizaciones, es su eficacia a largo término. En este ensayo la eficacia desde el punto de vista bacteriológico (porcentaje de sujetos que se mantienen libres de colonización nasal por la misma cepa de *S.aureus* que tenían inicialmente) fue del 60% a los 90 y 120 días de seguimiento, disminuyendo al 50% a los 180 días de seguimiento. Resultados similares obtienen Casewell y Hill (38) con un 50% de eficacia a las 22 semanas de seguimiento.

Aunque en la valoración del fármaco interesa la eficacia bacteriológica, desde el punto de vista epidemiológico hay que tener en cuenta también las recolonizaciones por distintas cepas, para cualquier planificación de actuación sobre una población determinada. Teniendo en cuenta la recolonización por cepas distintas, a los 120 y 180 días de seguimiento, los porcentajes de sujetos que se mantenían libres de colonización nasal por *S.aureus* disminuyen al 44% y 33% respectivamente.

En el ensayo multicéntrico llevado a cabo en Estados Unidos (59, 60), se publican resultados de seguimiento de 4 semanas, permaneciendo, en ese momento, libres de colonización nasal por *S.aureus* 96 de 130 sujetos que tuvieron cultivos negativos al final del tratamiento.

No hay razones para pensar que la respuesta en portadores de SARM vaya a ser diferente que en portadores de SASM, dado que la actividad de mupirocín no tiene ninguna relación con la resistencia a la meticilina. La respuesta encontrada en el HUSC

en el tratamiento de portadores de SARM en relación con el brote de infección nosocomial, similar a la encontrada en este ensayo (83% versus 87% de eficacia postratamiento; 25% versus 32% de recidiva a las 3 semanas) apoya esta afirmación.

En conclusión, mupirocín cálcico al 2% en base de parafina, ha resultado eficaz, seguro y bien tolerado en la supresión de la colonización nasal por *S.aureus* en voluntarios sanos (personal hospitalario), persistiendo la tercera parte de los sujetos libres de colonización nasal por *S.aureus* a los 6 meses de finalizado el tratamiento.

CONCLUSIONES



ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

1. Para el diagnóstico de SARM en exudados nasales se debe utilizar un medio selectivo de *S.aureus* (ágar Baird-Parker o ágar manitol) y determinar posteriormente la sensibilidad a la meticilina. La adición de un caldo nutritivo aumenta la sensibilidad diagnóstica, pero duplica el trabajo, tiempo y coste.
2. La utilización de un medio con antibiótico (oxacilina) en la siembra directa permite adelantar el diagnóstico de SARM, pero debe acompañarse de otros medios sin antibiótico, por presentar baja sensibilidad.
3. Estudios sobre la eficacia de mupirocín en la erradicación de la colonización nasal por *S.aureus* deben contemplar la utilización de un medio de cultivo con neutralizante del poder inhibitorio del antimicrobiano residual (ágar charcoal), para los cultivos realizados durante al tratamiento o al finalizarlo.

EFICACIA DE MUPIROCIN

1. Mupirocín fue activo in vitro frente al 100% de las cepas de *S.aureus* obtenidas en el ensayo clínico realizado. Frente a los aislamientos de SARM procedentes del brote de infección nosocomial, los porcentajes de sensibilidad oscilaron entre el 70.9% y el 97.0%. No se ha detectado ninguna cepa con alto nivel de resistencia.
2. La resistencia de bajo nivel a mupirocín en SARM no fue un factor condicionante de la respuesta al tratamiento intranasal. Si lo fueron la colonización extranasal o la infección asociada.
3. Después de 4 dosis de mupirocín (a las 48 horas del inicio del tratamiento), se obtuvo un descenso significativo en la densidad

de colonización nasal por *S.aureus*, habiéndose eliminado el microorganismo en el 58% de los sujetos.

4. El tratamiento tópico con mupirocín dos veces/día durante cinco días ha sido eficaz para la eliminación de la colonización nasal por *S.aureus* (87% de erradicación postratamiento, 77.3% de diferencia en el porcentaje de erradicación con el grupo placebo)

5. A los 4 y 6 meses de la finalización del tratamiento, el 60% y 50% respectivamente de los sujetos, permanecían libres de colonización nasal por la cepa de *S.aureus* que tenían inicialmente, y el 44% y 33% respectivamente no habían vuelto a ser colonizados por *S.aureus*.

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

1. La detección de portadores asintomáticos (pacientes ingresados y personal hospitalario) mostró toda la extensión del brote de infección nosocomial por SARM, y el tratamiento de los mismos junto con las demás medidas previamente desarrolladas llevó a su control.

2. La colonización nasal en el personal hospitalario, constituyó un importante reservorio de SARM en el brote. La mayor prevalencia de portadores se encontró en enfermeras y auxiliares de clínica de zonas donde se acumulan pacientes crónicos.

3. El personal hospitalario y los pacientes ingresados que hayan sido portadores de SARM, deben ser vigilados periódicamente mientras se mantenga la situación endémica de SARM, dada la frecuencia de recolonización por la misma cepa de *S.aureus* (37% a los 6 meses de seguimiento).

BIBLIOGRAFIA



1. Agudo E, Romero J, Aparicio P, Picazo J. : Evolución de la epidemia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Identificación de la cepa epidémica. *Enf Infec Microbiol Clin* 1992, 10 Supl. 2 : 112
2. Aly R, Shinefield HI, Strauss WG, Maibach HI. Bacterial adherence to nasal mucosa cells. *Infect Immun* 1977, 17 : 546-9.
3. Aparicio P, Richardson J, Martin S, Vindel A, Marples RR, Cookson BD. An epidemic methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* in Spain. *Epidemiol Infect* 1992, 108 : 287-98.
4. Archer GL, Mayhall CG. Comparison of epidemiological markers used in the investigation of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Clin Microbiol* 1983, 18 : 395-9.
5. Archer GL, Pennell E. Detection of methicillin resistance in staphylococci by using a DNA probe. *Antimicrob Agents Chemother* 1990, 34 : 1720-4.
6. Armitage G, Berry G. Regression and correlation, p. 141-159. En P. Armitage and G. Berry (ed.). *Statistical methods in medical research*, second edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
7. Arredondo JL. Efficacy and tolerance of topical mupirocin compared with oral dicloxacillin in the treatment of primary skin infections. *Curr Ther Res* 1987, 41 : 121-7.
8. Ayliffe GAJ, Babb JR, Collins BJ. Dispersal of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* ii 1974 : 1573.
9. Ayliffe GAJ, Lilly HA. : Cross-infection and its prevention.

J Hosp Infect 1985, 6 (Supp. B), 47-57.

10. Ayliffe GAJ. Guidelines for the control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Report of a combined working party of the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy. J Hosp Infect 1986, 7 : 193 - 201.

11. Ayliffe GAJ. Revised guidelines for the control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Report of a combined working party of the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy. J Hosp Infect 1990, 16 : 351 - 377.

12. Baird-Parker AC. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. J Appl Bact 1962, 25 : 12 - 19.

13. Baird-Parker AC, Davenport E. The effect of recovering medium on the isolation of *Staphylococcus aureus* after heat treatment and after the storage of frozen or dried cells. J Appl Bact 1965, 28 : 390 - 402.

14. Barr JG, Hogg GM. Value of charcoal media for recovering staphylococci incorporated in Mupirocin ointment. J Clin Pathol 1987, 40 : 372 - 376.

15. Barrett FF, McGehef RF, Finland M : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital : bacteriologic and epidemiologic observations. N Eng J Med 1968, 279 : 441-8.

16. Barrett SP. The value of nasal mupirocin in containing an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an orthopaedic unit. J Hosp Infect 1990, 15 : 137-42.

-
17. Barry AL, Thornsberry C. Susceptibility test : Diffusion test procedures. En Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds.), Manual de Microbiología Clínica, 4ª ed. American Society for Microbiology, Washington D.C., 1985; p : 978 - 987.
18. Beck WD, Berger-Bachi B, Kayser FH. Additional DNA in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and molecular cloning of mec-specific DNA. J Bacteriol 1986, 165 : 373-8.
19. Benner EJ, Kayser FH : Growing clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 1968, 2 : 741-4.
20. Blair JE, Williams REO. Phage typing of *Staphylococcus*. Bulletin of the World Health Organization. 1961, 24 : 771-784.
21. Blech MF, Vanelle A, Hartemann P, Foliguet JM. Intérêt et limites de la recherche de staphylocoques présumés pathogènes parmi le personnel des cuisines collectives. Bilan de cinq années de contrôle microbiologique. Med Maladies Infect 1983, 13 : 62 - 68.
22. Blumberg HM, Rimland D, Carrol DJ, Terry P, Wachsmuth IK. Rapid development of ciprofloxacin resistance in methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 1991, 163 : 1279-85.
23. Bock BV, Papsiecznik K, Meyer RD. Clinical and laboratory studies of nosocomial *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides. Infect Control 1982, 3 : 224-8.
24. Boelaert JR, De Smedt RA, De Baere YA. The influence of calcium mupirocin nasal ointment on the incidence of *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis patients. Nephrol Dial Trasplant 1989, 4 : 278-81.

-
25. Boyce JM. Nosocomial staphylococcal infections. *Ann Intern Med* 1981, 95 : 241-2.
26. Boyce JM, Landry M, Dedetz TR, Dupont HL. Epidemiologic studies of an outbreak of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Control* 1981, 2 : 110-6.
27. Boyce JM, White RL, Causey WA, Lockwood WR. Burn units as a source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *JAMA* 1983, 249 : 2803-7.
28. Boyce JM. Should we vigorously try to contain and control methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*?. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991, 11 : 46-54.
29. Brennen C, Muder RR. Conjunctivitis associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term-care facility. *Am J Med* 1990, 88 : 14N-17N.
30. Bryan CS, Wilson RS, Meade P, Sill LG : Topical antibiotic ointments for staphylococci nasal carriers : survey of current practices and comparison of bacitracin and vancomycin ointments. *Infect Control* 1980, 1 : 153-6.
31. Budnick LD, Schaeffler S. Ciprofloxacin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in New York health care facilities, 1988. The New York MRSA Study Group. *Am J Public Health* 1990, 80 : 810-3.
32. Bulanda M, Czopek E, Heczko PB. Prevention of outbreaks of staphylococcal scalded skin syndrome in nursery by treating carriers of *Staphylococcus aureus* with mupirocin. In : Proceedings of the 7th Mediterranean Congress of Chemotherapy, 1990, Barcelona, Abstract n° 984 : 211.

-
33. Burnie JP, Matthews RC, Lee W, Murdoch D. A comparison of immunoblot and DNA restriction patterns in characterising methicillin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol 1989, 29 : 255-61.
34. Campoli Richards DM, Brogden RN, Faulds D. Teicoplanin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potential. Drugs 1990, 40 : 449-86.
35. Carruthers MM, Kabat WJ. Mediation of staphylococcal adherence to mucosal cells by lipoteichoic acid. Infect Immun 1983, 40 : 444-6.
36. Casewell MW. Epidemiology and control of the modern methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect 1986, 7 (supl.A) : 1-11.
37. Casewell MW, Hill RLR : The carrier state : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1986, 18 Suppl. A : 1-12.
38. Casewell MW, Hill RLR. Elimination of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* with mupirocin (pseudomonic acid) a controlled trial. J Antimicrob Chemother 1986, 17 : 365-372.
39. Casewell MW, Hill RLR. Minimal dose requirements for nasal mupirocin and its role in the control of epidemic MRSA. J Hosp Infect 1991, 19 Supl.B : 35-40.
40. Cederna JE, Terpenning MS, Ensberg M, Bradley SF, Kauffman CA. *Staphylococcus aureus* nasal colonization in a nursing home : eradication with mupirocin. Infect Control Hosp Epidemiol 1990, 11 : 13-6.
41. Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci. Clin

- Microbiol Rev 1988, 1, 173-186.
42. Chambers HF. Treatment of infection and colonization caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Infect Control Hosp Epidemiol 1991, 12 : 29-35.
43. Chatfield CA, O'Neill WA, Cooke RPD, McGhee KJ, Issack M, Rahman M, Noble WC. Mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* in a specialist school population. J Hosp Infect 1994, 26 : 273-78.
44. Coello R, Jiménez J, García M, Arroyo P, Mínguez D, Fernández C, Cruzet F, Gaspar C. : Prospective study of infection, colonization and carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994, 13 : 74-81.
45. Collins JK, Smith JS, Kelly MT. Comparison of phage typing, plasmid mapping, and antibiotic resistance patterns as epidemiologic markers in a nosocomial outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Diagn Microbiol Infect Dis 1984, 2 : 233-45.
46. Cookson BD, Lacey RW, Noble WC, Reeves DS, Wise R, Redhead RJ. Mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 1990, 335 : 1095-6.
47. Cookson B, Peters B, Webster M, Phillips I, Rahman M, Noble W. : Staff carriage of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1989 : 1471-1476.
48. Cortieu AL, Guillermet FN, Longerey C, Maka G, Chabbert Y. : Frequence de staphylocoques presentant une resistance heterogene a la methicilline et l'oxacilline en milieu hospitalier. Ann Inst Pasteur 1964, 107 : 691-7.

-
49. Cross AS, Steigbigel RT. Infective endocarditis and access site infection in patients on hemodialysis. *Medicine* 1976, 55 : 453.
50. Crossley K, Landesman B, Zaske D. An outbreak of infection caused by strains of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides. *Epidemiologic studies. J Infect Dis* 1979, 139 : 280-7.
51. Dacre J, Emmerson AM, Jenner EA. Nasal carriage of gentamicin and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* treated with topical pseudomonic acid. *Lancet* ii 1983 : 1036.
52. Dacre J, Emmerson AM, Jenner EA. Gentamicin-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : epidemiology and containment of an outbreak. *J Hosp Infect* 1986, 7 : 130-6.
53. Daum TE, Schaberg DR, Terpenning MS, Sottile WS, Kauffman CA. Increasing resistance of *Staphylococcus aureus* to ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1990, 34 : 1862-3.
54. Davies EA, Emmerson AM, Hogg GM, Patterson MF, Shields MD. An outbreak of infection with a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a special care baby unit : value of topical mupirocin and traditional methods of infection control. *J Hosp Infect* 1987, 10 : 120-128.
55. Dawson SJ, Finn LF, McCulloch JE, Kilvington S, Lewis DA. Mupirocin-resistant MRSA. *J Hosp Infect* 1994, 28 : 75-8.
56. De Lencastre H, Sa Figueiredo A, Urban C, Rahal J, Tomasz A. Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991, 35 : 632-9.

-
57. Del Valle Ortiz O, Reina J, Calderón A, Moraga Llop FA. : Estudio epidemiológico de los *S.aureus* meticilín-resistentes aislados en pacientes pediátricos. *Infectologika* 1986, 7 : 27-34.
58. Demey HE, Eycken M, Vandermast M, Bossaert LL. Purulent pericarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. A case report. *Acta Cardiol* 1991, 46 : 485-91.
59. Doebbeling B, Breneman D, Marsh R, Reagan D, Wenzel R. Multi-centre study of elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage with calcium mupirocin ointment in healthy subjects. In : Proceedings of the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1992, Abstract n° 1688.
60. Doebbeling BN, Breneman DL, Neu HC, Aly R, Yangco BG, Holley HP, Marsh RJ, Pfaller MA, McGowan JE, Scully BE, Reagan DR, Wenzel RP. Elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in health care workers : analysis of six trials with calcium mupirocin ointment. *Clin Infect Dis* 1993, 17 : 466-74.
61. Duckworth GJ, Lothian JLE, Williams JD. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : report of an outbreak in a London teaching hospital. *J Hosp Infect* 1988, 11 : 1-15.
62. Dyke KGH. Beta-lactamases of *Staphylococcus aureus*. En Hamilton-Miller JMT, Smith JT, eds. *Beta-lactamases*. Londres, Academic Press, Inc., 1979, 291-310.
63. Eiferman RA, O'Neill KP, Morrison NA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* corneal ulcers. *Ann Ophthalmol* 1991, 23 : 414-5.
64. Ellison RT 3d, Judson FN, Peterson LC, Cohn DL, Ehret JM. Oral rifampin and trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in asymptomatic carriers of methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus infections. Western J Med 1984, 140 : 735-40.

65. Eng RH, Smith SM, Tillem M, Cherubin C. Rifampin resistance. Development during the therapy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Arch Intern Med 1985, 145 : 146-8.

66. Eriksen KR, Erichsen I : Resistance to methicillin, isoxazolyl penicillins and cephalotin in *Staphylococcus aureus*. Acta Pathol Microbiol Scand 1964, 62 : 255-75.

67. Escortell E, Fernández C, Arroyo P, Mínguez , Cruzet F, Coello R. Análisis de factores de riesgo en un brote por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Enf Infec Microbiol Clin 1992, 10, Supl.3 : 55-6.

68. Espersen, F.; Clemmensen, I. Isolation of a fibronectin-binding protein from *Staphylococcus aureus*. Infect Immun 1982, 37 : 526-31.

69. Farmer TH, Gilbert J, Elson SW. Biochemical basis of mupirocin resistance in strains of *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1992, 30 : 587-96.

70. Farrington M, Ling J, Ling T, French GL. Outbreaks of infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on neonatal and burns units of a new hospital. Epidemiol Infect 1990, 105 : 215-28.

71. Fernández C, Gaspar MC, Torrellas A, Vindel A, Saez Nieto J, Cruzet F, Aguilar L. A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial to evaluate the safety and efficacy of mupirocin calcium ointment for eradicating nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among hospital personnel. J Antimicrob Chemother (Aceptado para publicación en Septiembre de 1994).

-
72. Fitzpatrick DJ, Cafferkey MT, Toner M, Beattie T, Keane CT. Osteomyelitis with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect 1986, 8 : 24-30.
73. Garbe PL, Arka RJ, Reingold AL. *Staphylococcus aureus* isolates from patients with nonmenstrual toxic shock syndrome. JAMA, 1985, 253 : 2538-42.
74. Garner JS, Bennet JV, Scheckler WE, Maki DG, Brachman, PS. : CDC definitions for nosocomial infection. Am J Infect Control 1988, 16 : 128 - 140.
75. Gaspar, MC. Carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by healthcare personnel : incidence, significance and elimination. En Coello y Casewell (ed.). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. International Clinical Practice Series. Wells Medical Limited, Kent 1993.
76. Gaspar MC, Sánchez P, Uribe P, Coello R, Arroyo P, Cruzet F. Mupirocin susceptibility in vitro and epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal eradication. J Hosp Infect 1992, 24 : 237-238.
77. Gaspar MC, Uribe P, Sánchez P, Coello R, Cruzet F. Personal hospitalario portador nasal de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Utilidad del tratamiento con Mupirocín. Enf Infec Microbiol Clin 1992, 10 : 107-10.
78. Gaynes R, Marosok R, Mowry Hanley J, Laughlin C, Foley K, Friedman C, Kirsh M. Mediastinitis following coronary artery bypass surgery : a 3-years review. J Infect Dis 1991, 163 : 117-21.
79. Gelmi M, Foresti I, Ravizzola G, Bonfanti C, Verardi R, Caruso A, Turano A. Antibiotic resistances and plasmids in

Staphylococcus aureus from Italian hospitals. J Med Microbiol 1987, 23 : 111-8.

80. Gilbert J, Perry CR, Slocombe B. High-level mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* : Evidence for two distinct isoleucyl-tRNA synthetases. Antimicrob Agents Chemother 1993, 37 : 3238.

81. Gilbert M. Topical 2% mupirocin versus 2% fusidic acid ointment in the treatment of primary and secondary skin infections. J Am Acad Dermatol 1989, 20 : 1083-7.

82. Gillespie MT, Lyon BR, Skurray RA. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by antibiotic resistance phenotypes. J Med Microbiol 1990, 31 : 57-64.

83. Gould FK, Freeman R, Sisson PR, Cookson BD, Lightfoot NF. Inter-strain comparison by pyrolysis mass spectrometry in the investigation of *Staphylococcus aureus* nosocomial infection. J Hosp Infect 1991, 19 : 41-8.

84. Gratton D. Topical mupirocin versus oral erythromycin in the treatment of primary and secondary skin infections. Int J Dermatol 1987, 26 : 472-3.

85. Gu JW, Briones F, Fang W, Scully BE, Neu HC. Susceptibility of 1309 nasal isolates of *Staphylococcus aureus* from hospital personnel in the United States to 21 antibiotics. American Society for Microbiology meeting, 1991 Dallas, Abstract A97.

86. Guertin-Larochelle S. Efficacy and tolerance of topical Bactroban (2% mupirocin) versus systemic cloxacillin in the treatment of primary and secondary skin infections. Today's Ther Trends 1986, 4 : 1-14.

-
87. Hackbarth CJ, Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci : detection methods and treatment of infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33, 995-9.
88. Hackbarth CJ, Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci : Genetics and mechanisms of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33, 991-4.
89. Haley RW, Hightower AW, Khabbaz RF, Thornsberry C, Martone WJ, Allen JR, Hughes JM : The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in United States hospitals. Possible role of house staff-patient transfer circuit. *Ann Intern Med* 1982, 97 : 297-308.
90. Hansen SL, Walsh TJ. Detection of intrinsically resistant (heteroresistant) *Staphylococcus aureus* with the Sceptor and AutoMicrobic systems. *J Clin Microbiol* 1987, 25 : 412-5.
91. Hartman BJ, Tomazs A. Expression of methicillin resistance in heterogenous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986, 29, 85-92.
92. Hill RL, Duckworth GJ, Casewell MW. Elimination of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with mupirocin during a hospital outbreak. *J Antimicrob Chemother* 1988, 22 : 377-84.
93. Hill RLR, Fisher AP, Ware RJ, Wilson S, Casewell MW. Mupirocin for the reduction of colonization of internal jugular cannulae-a randomized controlled trial. *J Hosp Infect* 1990, 15 : 311-21.
94. Hsu CCS. Serial survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among residents in a nursing home. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991, 12 : 416-21.

-
95. Hudson IRB. The efficacy of intranasal mupirocin in the prevention of staphylococcal infections : a review of recent experience. *J Hosp Infect* 1994, 27 : 81-98.
96. Ikejima T, Dinarello CA, Gill DM. Induction of human interleukin-1 by a product of *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrome. *J Clin Invest* 1984, 73 : 1312 - 20.
97. Jevons MP. : "Celbenin"-resistant staphylococci (letter). *Br Med J* 1961, 1 : 124-5.
98. Jordens JZ, Hall LMC. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates by restriction endonuclease digestion of chromosomal DNA. *J Med Microbiol* 1988, 27 : 117-23.
99. Kalstone C. Methicillin-resistant staphylococcal mastitis. *Am J Obstet Gynecol* 1989, 161 : 120.
100. Kappstein I, Daschner FD. Potential inroads to reducing hospital-acquired staphylococcal infection and its cost. *J Hosp Infect* 1991, 19 : 31-4.
101. Kauffman CA, Terpenning MS, He X. Attempts to eradicate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a long term care facility with the use of mupirocin ointment. *Am J Med* 1993, 94 : 371-78.
102. Kinsman OS, McKenna R, Noble WC. Association between histocompatibility antigens (HLA) and nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1983, 16 : 215-20.
103. Kirby WMN. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin. *Science* 1944, 99 : 452-53.

-
104. Klimek JJ, Marsik FJ, Bartlett RC, Weir B, Shea P, Quintiliani R. Clinical, epidemiologic and Bacteriologic observations of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a large community hospital. Am J Med 1976, 61 : 340-5.
105. Kloos WE, Jorgensen JH. Staphylococci. En Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds.), Manual de Microbiología Clínica, 4ª ed. American Society for Microbiology, Washington D.C., 1985; p : 143 - 153.
106. Kluytmans J, Maat A, Manders M, Wagenvoort J. Reduction of post-operative wound infection by elimination of nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. In : Proceedings of the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1992, Abstract nº 1267 : 322.
107. Knox R. Celbenin-resistant staphylococci. Br Med J 1961, 1 : 126.
108. La Zonby JG, Starzyk MJ. Screening method for recovery of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from primary plates. J Clin Microbiol 1986, 24 : 186-8.
109. Lally RT, Ederer MN, Woolfrey BF. Evaluation of mannitol-salt agar with oxacillin as a screening medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1985, 22 : 501-4.
110. Lally RT, Ederer MN, Woolfrey BF. Evaluation of the newly modified AutoMicrobic system gram-positive susceptibility-MIC card for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1986, 23 : 387.
111. Lamb YJ. Overview of the role of mupirocin. J Hosp Infect

1991, 19 (supl.B) : 27-30.

112. Leigh DA, Joy G. Treatment of familial staphylococcal infection-Comparison of mupirocin nasal ointment and chlorhexidine/neomycin (Naseptin) cream in eradication of nasal carriage. *J Antimicrob Chemother* 1993, 31 : 909-17.

113. Lidwell OM, Davies J, Payne RW, Newman P, Williams REO. Nasal acquisition of *Staphylococcus aureus* in partly divided wards. *J Hyg Camb* 1971, 69 : 113-23.

114. Lidwell OM, Polakoff S, Davies J, Hewitt JH, Shooter RA, Walker KA, Gaya H, Taylor GW. Nasal acquisition of *Staphylococcus aureus* in a subdivided and mechanically ventilated ward : endemic prevalence of a single staphylococcal strain. *J Hyg Camb* 1970, 68 : 417-33.

115. Lidwell OM, Polakoff S, Jevons MP, Parker MT, Shooter RA, French VI, Dunkerley DR. Staphylococcal infection in thoracic surgery : experience in a subdivided ward. *J Hyg Camb* 1966, 64 : 321-37.

116. Lindsay MI, Herrmann EC, Morrow GW. Hong Kong influenza, clinical, microbiologic and pathologic features in 127 cases. *JAMA* 1970, 214 : 1825.

117. Linnemann CC, Mason M, Moore P, Korfhagen TR, Staneck JL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : experience in a general hospital over four years. *Am J Epidemiol* 1982, 115 : 941-950.

118. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* : Genetic basis. *Microbiol Rev.* 1987, 51, 88-134.

-
119. Machka K, Braveny I. Comparative in vitro activity of LY146032 (daptomycin) against gram-positive cocci. Eur J Clin Microbiol 1987, 6 : 96-9.
120. Maki DG, McCormick RD, Zilz MA, Stolz SM, Alvarado CJ. An MRSA outbreak in a SICU during universal precautions : new epidemiology for nosocomial MRSA; downside for universal precautions. II International Conference of the Hospital Infection Society. Londres 1990. Libro de comunicaciones : 52.
121. Mandell GL. Catalase, superoxide desmutase, and virulence of *Staphylococcus aureus*. In vitro and in vivo studies with emphasis on staphylococcal-leukocyte interaction. J Clin Invest 1975, 55 : 561.
122. Maple PA, Hamilton Miller JM, Brumfitt W. World-wide antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 1989, 1 : 537-40.
123. Martín AA, Luna JC. Bioestadística para las ciencias de la salud. Madrid. Ed. Norma SA, 1988.
124. Martin MV, Hardy P. Two cases of oral infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Br Dent J 1991, 170 : 63-4.
125. Martín Borgón C, Berrón S, Casal J. Hospital infection caused by nontypable *S.aureus* : application of reverse typing. J Hyg Camb 1985, 94 : 201-204.
126. Martín de Nicolas MM, Vindel A, Torrellas A, SÁez-Nieto JA. In-vitro activity of mupirocin and 11 other antibiotics against 1500 spanish clinical isolates of *S.aureus* causing hospital infections from 1979 to 1992. 18th International Congress of Chemotherapy, 27 Jun-2 Jul 1993. Abstract n° 891.

-
127. Martinez OV, Cleary T, Baker M, Civetta J. Evaluation of a mannitol-salt-oxacillin-tellurite medium for the isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated sources. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992, 15 : 207-11.
128. Martinez Beltran J, Cantón R. *Staphylococcus aureus*. Mecanismos de resistencia a meticilina. *Enf Infec Microbiol Clín* 1992, 10, Supl.3 : 7-15.
129. McDougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* 1986, 23 : 832-839.
130. Melish ME, Glasgow LA. The staphylococcal scalded skin syndrome : development of an experimental model. *N Engl J Med*, 1970, 282 : 1114.
131. Melo C J, Pina ME, Moreira R. Failure of traditional methods of infection control to eradicate a MRSA epidemic strain from a newborn nursery. II International Conference of the Hospital Infection Society. Londres 1990. Libro de comunicaciones : 51.
132. Millar MR, Keyworth N, Lincoln C, King B, Congdon P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a regional neonatology unit. *J Hosp Infect* 1987, 10 : 187-97.
133. Montiel F, Kaltwasser G, Valdivieso C, Lam M. In vitro susceptibility to 10 antibiotics of methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* in Chile. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1988, 10 : 145-8.
134. Morgan MG, Harte-Barry MJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : a ten-year survey in a Dublin hospital. *J Hosp Infect* 1989, 14 : 357-62.

-
135. Mulligan ME, Ruane PJ, Johnston L, Wong P, Wheelock Jp. Ciprofloxacin for eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. Am J Med 1987, 82 : 215-9.
136. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991, 29 : 2240-4.
137. Murakami K, Nomura K, Doi M, Yoshida Y. Production of low-affinity penicillin-binding protein by low-and high-resistance groups of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1987, 31 : 1307-11.
138. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1990. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test-fourth edition; Approved Standard NCCLS Document M2-A4. Villanova, Pa.
139. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1990. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Second edition : Approved Standard. NCCLS Document M7-A2. Villanova, Pa.
140. Noble WC. : Nasal carriage and recurrent infection. En J.W.M. van der Meer (ed). "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. A round table discussion". Excerpta Medica, Amsterdam 1990.
141. Noble WC, White MI. Staphylococcal skin infection in man. En Staphylococci and Staphylococcal Infections. (Easmon CSF, Adiam C, ed.). Academic Press, London 1983 : 165-91.
142. Opal SM, Mayer KH, Stenberg MJ, Blazek JE, Mikolich DJ, Dickensheets DL, Lyhte LW, Trudel RR, Musser JM. Frequent

acquisition of multiple strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by healthcare workers in an endemic hospital environment. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990, 11 : 479-85.

143. O'Toole RD, Drew WL, Dahlgren BJ, Beaty HN : An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Observations in Hospital and Nursing Home. *JAMA* 1970, 213 : 257-263.

144. Overturf GD, Sherman MP, Scheifele DW, Wong LC. Neonatal necrotizing enterocolitis associated with delta toxin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatr Infect Dis J* 1990, 9 : 88-91.

145. Palau E. Implicaciones de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en la gestión hospitalaria y relaciones públicas. En Coello y Casewell (ed.). *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*. International Clinical Practice Series. Wells Medical Limited, Kent 1993.

146. Parker MT, John M, Edmond RTD, Machacek KA. Acquisition of *Staphylococcus aureus* by patients in cubicles. *Br Med J* 1965, 1 : 1101-5.

147. Parras F, Rodriguez M, Bouza E, Munoz P, Cercenado E, Guerrero C, Zancada G. Epidemic outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a general hospital. Preliminary Report. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1991, 9 : 200-7.

148. Parsonnet J, Gillis ZA, Pier GB. Induction of interleukin-1 by strains of *Staphylococcus aureus* from patients with nonmenstrual toxic shock syndrome. *J Infect Dis* 1986, 154 : 55 - 63.

-
149. Peacock JE Jr, Marsik FJ, Wenzel RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : introduction and spread within a hospital. *Ann Intern Med* 1980, 93 : 526-32.
150. Perez Trallero E, García Arenzana J, Ansa Castañeda A, Paisan Grisoloia L : Unusual multiresistant *S.aureus* in a newborn nurse. *Am J Dis Child* 1981, 135 : 689-692.
151. Peterson LR, Quick JN, Jensen B, Homann S, Johnson S, Tenquist J, Shanholtzer C, Petzel RA, Sinn L, Gerding DN. Emergence of ciprofloxacin resistance in nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. Resistance during ciprofloxacin plus rifampin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Arch Intern Med* 1990, 150 : 2151-5.
152. Pocock SJ. The size of a clinical trial, p. 123-141. In J.Wiley and sons (ed), *Clinical trials, a practical approach*. Chichester 1983.
153. Pozo Rodríguez F. La eficacia de las pruebas diagnósticas. *Med Clin (Barc)* 1988, 91 : 177-83.
154. Prevost G, Jaulhac B, Piemont Y. DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis is more effective than ribotyping in distinguishing among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 967-73.
155. Prevost G, Pottecher B, Dahlet M. Pulsed field electrophoresis as a new epidemiological tool for monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 1991, 17 : 255-69.
156. Rauss A, Legrand P, Brun Y. *Staphylococcus aureus* nasal

- carriage and infection in intensive care patients (poster). Proc 5th ECCMID, Oslo, 9-11 Sept. 1991. Abstract n° 1551.
157. Raviglione MC, Boyle JF, Mariuz P, Pablos-Mendez A, Cortes H, Merlo A. Ciprofloxacin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a acute-care hospital. Antimicrob Agents Chemother 1990, 34 : 2050-4.
158. Reagan DR, Doebbeling BN, Pfaller MA, Sheetz CT, Houston AK, Hollis RJ, Wenzel RP. Elimination of coincident *Staphylococcus aureus* nasal and hand carriage with intranasal application of mupirocin calcium ointment. Ann Intern Med 1991, 114 : 101-6.
159. Rebel MH, Van Furth R, Stevens P. The flora of renal haemodialysis shunt sites. J Clin Pathol 1975, 28 : 29-32.
160. Rebhan AW, Erdwards HE. Staphylococcal pneumonia : a review of 329 cases. Can Med Assoc J 1960, 82 : 513.
161. Redhead RJ, Lamb YJ, Rowsell RB. The efficacy of calcium mupirocin in the eradication of nasal *Staphylococcus aureus* carriage. Br J Clin Pharmacol 1991, 45 : 252-4.
162. Report, Public Health Laboratory Service. Incidence of surgical wound infection in England and Wales. Lancet ii. 1960 : 659-63.
163. Richardson JF, Chittasobhon N, Marples RR. Supplementary phages for the investigation of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol 1988, 25 : 67-74.
164. Robinson A, Mortensen JE, Griffith SB. Susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with three commercial microdilution systems. Diagn Microbiol Infect Dis 1986, 5 : 245-53.

-
165. Roccaforte JS, Bittner MJ, Stumpf CA, Preheim LC. Attempts to eradicate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization with the use of trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampin and bacitracin. *Am J Infect Control* 1988, 16 : 141-6.
166. Rode H, de Wet PM, Millar AJ, Cywes S. Bactericidal efficacy of mupirocin in multi-antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* burn wound infection. *J Antimicrob Chemother* 1988, 21 : 589-95.
167. Rode H, Hanslo D, de Wet PM, Millar AJ, Cywes S. Efficacy of mupirocin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* burn wound infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33 : 1358-61.
168. Rodriguez Avial C, Cabronero MC, Sanchez-Castañón J, Picazo, JJ : Patrón de sensibilidad de 66 cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de sépsis. En III Congreso SEIMC, Granada, 1988, Libro de resúmenes, p.415.
169. Rogolsky M. Nonenteric toxins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev*, 1979, 43 : 320.
170. Roodyn, L. : Epidemiology of staphylococcal infections. *J Hyg Camb* 1960, 58 : 1-10.
171. Rutala WA, Katz EB, Sherertz RJ, Sarubbi FA Jr. Environmental study of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic in a burn unit. *J Clin Microbiol* 1983, 18 : 683-8.
172. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. *Ann Intern Med* 1982, 96 : 11-6.
173. Saravolatz LD, Pohlod D, Arking LM. Community-acquired

- methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections : a new source for nosocomial outbreaks. *Ann Intern Med* 1982, 97 : 325-9.
174. Sande MA, Mandell GL. Effect of rifampicin on nasal carriage of *S.aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1975, 7 : 294-7.
175. Schlievert PM, Shands KN, Dan BB. Identification and characterization of an exotoxin from *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrome. *J Infect Dis* 1981, 143 : 509.
176. Schochetman G, Ou CY, Jones WK. Polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1988, 158 : 1154-57.
177. Schoenknecht FD, Sabath LD, Thornsberry C. Susceptibility test : Special tests. En Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds.), *Manual de Microbiología Clínica*, 4ª ed. American Society for Microbiology, Washington D.C., 1985; p : 1000 - 1008.
178. Shanson DC. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 1981, 2 : 11-36.
179. Sheagren JN. Overview of staphylococcal infections. In : Van Furth R, Michel MF, Thompson J, eds. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal disease. Leiden, Boerhaave, 1987.
180. Sheftel TG, Mader JT, Pennick JJ, Cierny G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Clin Orthop* 1985, 198 : 231-9.
181. Shinefield HR, Aly R, Maibach H, Ribble JC, Boris M, Eichenwald HF. Factors influencing colonization of mucous membranes and skin surfaces with *Staphylococcus aureus*. En *Microbiology* 1975 (Schlessinger D, ed) : 110-5. American Society

- for Microbiology, Washington D.C.
182. Slocombe B, Perry C. The antimicrobial activity of mupirocin-an update of resistance. *J Hosp Infect* 1991, 19 Supl. B : 19-25.
183. Smith SM, Eng RH, Bais P, Fan-Havard P, Tecson-Tumang F. Epidemiology of ciprofloxacin resistance among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1990, 26 : 567-72.
184. Smith SM, Eng RH, Tecson-Tumang F. Ciprofloxacin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections or colonizations. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33 : 181-4.
185. Smith SM, Mangia A, Eng RH, Ruggeri P, Cytryn A. Clindamycin for colonization and infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection* 1988, 16 : 95-7.
186. Spink WW, Ferris V. Quantitative action of penicillin inhibitor from penicillin resistant strains of staphylococci. *Science*, 1945, 102 : 221.
187. Strausbaugh LJ, Jacobson C, Sewell DL, Potter S, Ward TT. Antimicrobial therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents and staff of a Veterans Affairs nursing home care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992, 13 : 151-9.
188. Strock LL, Lee MM, Rutan RL, Desai MH, Robson MC, Herndon DN, Heggors JP. Topical Bactroban (mupirocin) : efficacy in treating burn wounds infected with methicillin-resistant staphylococci. *J Burn Care Rehabil* 1990, 11 : 454-9.
189. Thompson RL, Cabezudo I, Wenzel R : Epidemiology of

nosocomial infections caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Ann Intern Med 1982, 97 : 309-17.

190. Tomasz A. Penicillin binding proteins and the antibacterial effectiveness of betalactam antibiotics. Rev Infect Dis 1986, 8 (suppl.) : S260-78.

191. Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicrob Agents Chemother 1991, 35 : 124-9.

192. Treadwell TL, Craven DE, Delfin H, Stilmant MM, McCabe WR. Xanthogranulomatous pyelonephritis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Am J Med 1984, 76 : 533-7.

193. Trilla A, Marco F, Moreno A, Prat A, Soriano E, Jimenez de Anta MT. Epidemiología clínica de un brote de infección nosocomial por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y aminoglucósidos : eficacia de las medidas de control. Med Clin (Barc) 1993, 100 : 205-9.

194. Tuazon CU, Cardella TA, Sheagren JN. Staphylococcal endocarditis in drug users. Clinical and microbiolog aspects. Arch Intern Med 1975, 135-1555.

195. Tuffnell DJ, Croton RS, Hemingway DM, Hartley MN, Wake PN, Garvey RJP. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; the role of antiseptics in the control of an outbreak. J Hosp Infect 1987, 10 : 255-9.

196. Tuo P, Silvestri G, Mantero E, Vallarino R, Balzarini C, Bracco G, Pisano F, Nahuum I, Mazarello GF, Fabri A. Nosocomial infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric intensive care unit. Minerva Pediatr 1991, 43 : 11-7.

-
197. Ubukata K, Nakagami S, Nitta A, Yamane A, Kawaakami S, Sugiura M, Konno M.m Rapid detection of the *mecA* gene in methicillin-resistant staphylococci by enzymatic detection of polymerase chain reaction products. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 1728-33.
198. Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Emergence of high-level mupirocin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect* 1994, 26 : 157-65.
199. Unal S, Hoskins J, Flokowitsch JE, Wu CY, Preston DA, Skatrud PL. Detection of methicillin-resistant staphylococci by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 1685-91.
200. Van der Meer JWM. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. En J.W.M. van der Meer (ed). "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. A round table discussion". Excerpta Medica, Amsterdam 1990.
201. Van Enk RA, Thompson KD. Use of a primary isolation medium for recovery of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 504-505.
202. Venezia RA, Harris V, Miller C. Inivestigation of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with skin disease using DNA restriction patterns. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992, 13 : 472-476.
203. Vercellotti GM, Lussenhop D, Peterson PK, Furcht LT, McCarthy JB, Jacob HS, Moldow CF. Bacterial adherence to fibronectin and endothelial cells : a possible mechanism for bacterial tissue tropism. *J Lab Clin Med* 1984, 103 : 34-43.
204. Verger G. Infecciones por cocos Gram positivos. En :

Enfermedades Infecciosas. G. Verger Garau (ed), pp : 101-14. Ediciones Doyma, 1988, Barcelona.

205. Vila J. Métodos de tipificación para la investigación de brotes epidemiológicos intrahospitalarios ocasionados por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. *Enf Infect Microbiol Clin* 1992, 10 (Supl.3) : 30-35.

206. Vindel A, Martín Bourgón C, Saez Nieto JA. Characterization of nontypable strains of *S.aureus* from cases of hospital infections. *Epidemiol Infect* 1987, 99 : 191-200.

207. Vindel A, Sáez-Nieto JA. Caracterización de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina causantes de brotes mediante fagotipificación. *Enf Infect Microbiol Clin* 1992, 10 (Supl.3) : 36-38.

208. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus*. En "Enfermedades infecciosas, principios y práctica". Mandel, Douglas y Bennet (ed); pág. 1572-1595. Editorial Panamericana, 1991, Buenos Aires.

209. Walsh B, Drabu YJ, Mehtar S, Blakemore PH. Open study of teicoplanin in gram-positive infections. *Int J Clin Pharmacol Res* 1988, 8 : 99-100.

210. Ward A, Campoli-Richards DM. Mupirocin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* 1986, 32 : 425-44.

211. Welsh O, Saenz C. Topical mupirocin compared with oral ampicillin in the treatment of primary and secondary skin infections. *Curr Ther Res* 1987, 41 : 114-20.

212. Wheat LJ, Kohler RB, White A. Treatment of nasal carriers of coagulase positive staphylococci. In "Skin microbiology :

Relevance to clinical infection (Maibach HI and Aly R, eds.), pp : 50-58, Springer-Verlag, New York 1981.

213. Wheat LJ, Kohler RB, White AL, White A. Effect of rifampin on nasal carriers of coagulase-positive staphylococci. J Infect Dis 1981, 144 : 177.

214. White A. Relation between quantitative nasal cultures and dissemination of staphylococci. J Lab Clin Med 1961, 58 : 273-7.

215. White AR, Beale AS, Boon RJ, Griffin KE, Masters PJ, Sutherland R. Antibacterial activity of mupirocin. Proc of Int Symposium of Bactroban (Mupirocin). Nassau 1984 : 19-36.

216. White DG, Collins PO, Rowsell RB. Topical antibiotics in the treatment of superficial skin infections in general practice-a comparison of mupirocin with sodium fusidate. J Infection 1989, 18 : 221-9.

217. Wilhelm MP. Vancomycin. Mayo Clin Proc 1991, 66 : 1165-70.

218. Willems FThC. Epidemiology of nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. En JWM van der Meer (ed). "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. A round table discussion". Excerpta Medica, Amsterdam 1990.

219. Willems FThC. Fluctuation in nasal carriage of MRSE as a consequence of treatment of cardiac surgery patients and nurses with mupirocin. International Congress on Management of Infection, 1992, Amsterdam, Abstract n° 109 : 2.

220. Williams JD, Waltho CA, Ayliffe GAJ, Lowbury EJJ. Trials of five antibacterial creams in the control of nasal carriage of *S.aureus*. Lancet ii 1967 : 390-2.

-
221. Woods DE, Straus DC, Johanson Jr W, Bass JA. Role of fibronectin in the prevention of adherence of *Pseudomonas aruginosa* to buccal cells. J Infect Dis 1981, 143 : 784-90.
222. Wyatt TD, Ferguson WP, Wilson TS and McCormick E. Gentamicin resistant *Staphylococcus aureus* associated with the use of topical gentamicin. J Antimicrob Chemother 1977, 3 : 213-17.
223. Yamada KM, Olden K. Fibronectins-adhesive glycoproteins of cell surface and blood. Nature 1978, 275 : 179-84.
224. Yu PKW, Washington JA II. Identification of aerobic and facultatively anaerobic bacteria. En Washington JA (ed). Laboratory Procedures in Clinical Microbiology. 2ª ed. New York, Springer - Verlag, 1985 : 131 - 250.
225. Yu VL, Goetz A, Wagner M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis : efficacy of antibiotic prophylaxis. N Eng J Med 1986, 315 : 91-6.
226. Zebovitz E, Evans JB, Niven CF Jr. Tellurite-glycine agar : A selective plating medium for the quantitative detection of coagulase-positive staphylococci. J Bacteriol 1955, 70 : 686.
227. Zimmermann M, De Juan S, Escortell E, García M, Gaspar MC, Cruzet F. Prevalencia de portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en la población general durante un brote nosocomial epidémico. VI Congreso de la Sociedad Española de Higiene y Medicina Preventiva Hospitalaria. Mérida 1991.