



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica

Resistencia inducida a clindamicina en *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativo en el Instituto Nacional de Salud del Niño. 2015

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica con mención en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Manuel Eduardo CASA CIEZA

ASESORES

Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE

Edgar GONZALES ESCALANTE

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Casas M. Resistencia inducida a clindamicina en *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativo en el Instituto Nacional de Salud del Niño. 2015 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica; 2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA
"Año de la Consolidación del Mar de Grau"



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por el Director de la Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros
 Miembros: Dr. Washington Pilco Jara
 Q.F. Miguel Ciro Condezo Rojas

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 05 de mayo de 2016, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"RESISTENCIA INDUCIDA A CLINDAMICINA EN *Staphylococcus aureus* Y ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVO EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO. 2015"**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Bachiller:

Manuel Eduardo Casas Cieza

Habiendo obtenido el calificativo de:

..... 18

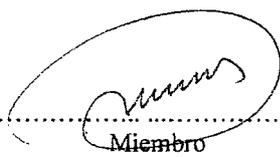
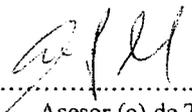
(en números)

..... DIECIOCHO

(en letras)

Que corresponde a la mención de: MUY BUENO

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

 Presidente Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros	 Miembro Dr. Washington Pilco Jara	 Miembro Dr. Washington Pilco Jara
 Miembro Q.F. Miguel Ciro Condezo Rojas		 Asesor (a) de Tesis Lic. TM. Carlos Raúl Sevilla Andrade

ASESOR: Lic. Sevilla Andrade Carlos Raúl
COASESOR: Lic. Gonzales Escalante Edgar

Dedicado

A mi padre Manuel Casas Oblitas.

A mi madre Yovany Cieza Curo.

A mi hermana Noemi Soledad Casas Cieza.

A mi prometida Natalie Pamela Tito Valverde.

A mi abuela Soledad Curo Chuman.

Mis más sinceros agradecimientos

A mis padres, por su gran apoyo, consejos, por estar en los momentos difíciles, por ayudarme con los recursos para estudiar, por su comprensión y amor.

A mi hermana, por sus buenos deseos y su comprensión en el tiempo que no le pude dedicar por mis estudios.

A mi prometida, por siempre apoyarme de forma incondicional y compartir mis objetivos, por ser mi inspiración, motivación y felicidad. Gracias por comprenderme en todo este tiempo.

A mi abuela y mis tías, porque aunque estén lejos, siempre me animaron y apoyaron con sus buenos deseos, amor y recursos para finalizar mis estudios.

Al Lic. Sevilla Andrade Carlos Raúl por aceptar ser mi asesor, ayudarme, orientarme y motivarme para la elaboración de mi trabajo de tesis. Además por su apoyo con los recursos y conocimientos para la ejecución de este trabajo de investigación

Al Lic. Gonzales Escalante Edgar del Servicio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño por su apoyo, tiempo, consejos y por guiarme en la ejecución de este trabajo.

A la Doctora Patiño y a todo el personal del servicio de microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño por permitir la realización de mi tesis dentro de su ambiente laboral.

Al Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM por el financiamiento de este trabajo de tesis.

RESISTENCIA INDUCIDA A CLINDAMICINA EN *Staphylococcus aureus* Y ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVO EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO. 2015

TESIS

Para optar del título profesional de:

Licenciado en Tecnología Médica con mención en

Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

ÍNDICE

RESUMEN	8
I. INTRODUCCIÓN	10
II. OBJETIVOS	12
1. GENERAL.....	12
2. ESPECÍFICOS	12
III. BASES TEÓRICAS	13
1. RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN EL GÉNERO <i>Staphylococcus</i>	13
2. RESISTENCIA A MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS B (MLS _B) .	15
2.1. LOS ANTIBIÓTICOS MLS _B Y SU ESPECTRO DE ACTIVIDAD.....	15
2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS MLS _B	16
2.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS MLS _B	17
3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA iMLS _B	20
4. IMPORTANCIA DE LA DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA iMLS _B	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	24
1. TIPO DE ESTUDIO	24
2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	24
3. ÁREA DE ESTUDIO DE LAS MUESTRAS.....	24
4. RECOLECCIÓN DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>Staphylococcus</i>	24
5. VARIABLES DE ESTUDIO.....	25
6. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	25
7. PLAN DE PROCEDIMIENTOS.....	25
7.1. COORDINACIÓN INSTITUCIONAL	25
7.2. MATERIAL BIOLÓGICO	25
7.3. DATOS DE LA MUESTRA	26
7.4. TEST DE INDUCCIÓN CON DOBLE DISCO DIFUSIÓN	26
7.5. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A LA METICILINA	27
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	27
V. RESULTADOS	28
1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA.....	28
2. <i>Staphylococcus</i> CON RESISTENCIA INDUCIDA A CLINDAMICINA	30
3. FENOTIPOS DE RESISTENCIA A CLINDAMICINA EN <i>Staphylococcus</i>	32
4. RESISTENCIA iMLS _B SEGÚN LA PROCEDENCIA DEL PACIENTE, SUSCEPTIBILIDAD A METICILINA Y EL TIPO DE MUESTRA.	34
VI. DISCUSIONES	38

VII. CONCLUSIONES	44
VIII. RECOMENDACIONES	45
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
X. ANEXOS	52

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Las infecciones por el género *Staphylococcus* son un problema de salud a nivel mundial. Debido a su gran capacidad de desarrollar mecanismo de resistencia a los antibióticos de uso común en la práctica clínica. La clindamicina se ha señalado en algunos estudios como alternativa de tratamiento contra estas bacterias, sin embargo, los estafilococos, también han desarrollado un mecanismo de resistencia particular contra este antibiótico. Este mecanismo de resistencia conocido como resistencia inducida a clindamicina (RIC), puede ser detectado e identificado con el D-Test. Se ha reportado una gran variabilidad en la frecuencia de RIC en diversas partes del mundo.

OBJETIVO: Determinar la frecuencia de resistencia inducida a clindamicina en *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativo en el Instituto Nacional de Salud del Niño.

MATERIALES Y MÉTODO: Se planteó un estudio observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal. Se realizó la recuperación de los aislamientos (*Staphylococcus*) del Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz” del INSN. Las bacterias recuperadas fueron evaluadas mediante la prueba de D-Test para identificación de la resistencia inducida a la clindamicina.

RESULTADOS: 203 cepas de *Staphylococcus* fueron estudiadas, 18,7% (38/203) eran *S. aureus* y 81,3% (165/203) eran estafilococos coagulasa negativo (SCN). La frecuencia de la resistencia inducida a clindamicina fue de 7,9% (16/203). Pero solo en las cepas de *S. aureus* la frecuencia fue 13,2% (5/38), siendo esta el doble de lo encontrado en los SCN, 6,7% (11/165). El fenotipo de resistencia a clindamicina más frecuente fue el fenotipo R con 44,8%, seguido del fenotipo N con 24,1%, el fenotipo S con 22,7%, fenotipo D+ con 4,4%,

fenotipo D con 3,5% y por último el fenotipo HD con 0,5%. Se encontró una p valor significativo, $p < 0.047$, al comprar la RIC en *S. aureus* y la procedencia del paciente.

CONCLUSIONES: La frecuencia de RIC es mayor en la especie de *S. aureus*, en comparación con los estudios anteriormente reportada en nuestro país. El fenotipo R el más frecuente, lo que demuestra que existe una alta frecuencia de resistencia constitutiva a clindamicina en cepas de *Staphylococcus* del INSN. La frecuencia de RIC en el total de muestras estudiadas fue baja. Además, se concluye que la RIC tiene una asociación estadística significativa en relación con la procedencia del paciente, siendo más frecuente en los pacientes de consulta externa.

PALABRAS CLAVES: *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulasa negativo, D-test, pacientes pediátrico, resistencia a meticilina, iMLS_B, resistencia inducida a clindamicina.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones provocadas por el género *Staphylococcus* son un problema de salud a nivel mundial que ha aumentado en los últimos años. Estas bacterias son causantes de muchas infecciones de piel y tejidos blandos, pudiendo llegar a un nivel sistémico. Estas infecciones se convierten en un problema mayor, debido a la gran capacidad de los *Staphylococcus* de desarrollar múltiples mecanismos de resistencia contra diferentes tipos de antibióticos (β -lactámicos y no β -lactámicos), limitando las alternativas de tratamiento y orientando a los clínicos al uso de los glicopéptidos^(1,2).

La especie de mayor problema, tanto a nivel hospitalario como comunitario, con altas tasas de morbilidad y mortalidad, es el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), que con frecuencia presenta resistencia a la meticilina (SARM), incluso se ha considerado a las infecciones comunitarias como una enfermedad emergente^(2,3). Los estafilococos coagulasa negativo (ECN), si bien en un inicio fueron considerados contaminantes de cultivos, ahora son potencialmente importante como patógeno del sistema nervioso central, bacteriemias, infecciones del tracto urinario, entre muchas otras^(4,5).

En investigaciones desarrolladas en nuestro país, se ha reportado el incremento de las infecciones en niños por especies del género *Staphylococcus* y cambios en sus patrones de resistencia⁽⁶⁾. En estudios similares, sobre mecanismos de resistencia en poblaciones de menores de edad, de países vecinos, como Chile, también existen reportes del incremento de estas infecciones y resistencias⁽⁷⁾. Por ello, se ha incrementado el interés de buscar nuevas alternativas terapéuticas para aminorar este problema^(6,7). Ante esta problemática, la clindamicina, se está señalando, en varios estudios, como una alternativa tentativa, debido a sus múltiples beneficios. Entre estos beneficios se puede señalar: la buena capacidad de penetración en los tejidos y acumulación en los abscesos, la no

necesidad de ajuste de dosis renal, buena absorción oral (importante para tratamiento ambulatorio), útil en terapias intravenosas y en pacientes alérgicos a la penicilina⁽⁸⁾.

Sin embargo, con el tiempo, los *Staphylococcus* también han desarrollado resistencia ante este antibiótico. El mecanismo de resistencia es conocido como resistencia inducida a la clindamicina (RIC) o resistencia inducida al complejo macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B (iMLS_B), el cual ya ha sido reportado en nuestro país en la especie de *S. aureus* en el año 2009 por Tamariz Jesús y *col.*, quien encontró una baja prevalencia (4,8%) de RIC en *S. aureus* en algunos hospitales de nuestro país⁽⁹⁾. Así mismo, en el año 2012 Carmona Edgar y *col.*, tuvieron como objetivo determinar la frecuencia y susceptibilidad antibiótica en *S. aureus* a partir de hisopados nasal de una población urbano marginal de Lima, en donde encontraron 8 cepas (7,3%) con RIC⁽¹⁰⁾.

II. OBJETIVOS

1. GENERAL

Determinar la frecuencia de resistencia inducida a clindamicina en *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativo en el Instituto Nacional de Salud del Niño.

2. ESPECÍFICOS

En los aislados de *S. aureus* y estafilococos coagulasa negativo desde octubre del 2015 a enero del 2016, se pretende desarrollar los siguientes objetivos específicos:

- Determinar los fenotipos de resistencia a la clindamicina.
- Determinar la frecuencia de resistencia inducida a la clindamicina en pacientes hospitalizados y de consulta externa.
- Determinar la frecuencia de la manifestación conjunta de resistencia inducida a la clindamicina y resistencia a la meticilina.
- Asociar la frecuencia de resistencia inducida a la clindamicina según el tipo de muestra, la procedencia del paciente y el perfil de susceptibilidad a la meticilina.

III. BASES TEÓRICAS

1. RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN EL GÉNERO *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus*, con frecuencia presentan una alta resistencia natural (intrínseca) a los antibióticos. Además, los *Staphylococcus* tiene la capacidad de adquirir, rápidamente, resistencia a los antibióticos que son usados con frecuencia en los tratamientos. La evolución de la resistencia en *Staphylococcus*, ha sido en gran medida como resultado del amplio uso empírico de antibióticos en los tratamientos, que ha conducido a la acumulación de elementos genéticos transponibles, que contienen genes que codifican para los distintos mecanismos de resistencia⁽¹¹⁾. Un ejemplo de esto, es lo ocurrido con la introducción de la penicilina para su uso clínico a principios de 1940. Sin embargo, en pocos años se informó la aparición de cepas resistentes a la penicilina en *S. aureus*, y por el año 1946 se estimó que el 60% de los aislados de hospitales en el Reino Unido eran resistentes a la penicilina⁽¹²⁾.

La introducción sucesiva de otros antibióticos como la estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol y los macrólidos contaron con un resultado similar, es decir, aparición rápida de cepas resistentes. Lo interesante de estas cepas, es que generalmente también eran resistentes a la penicilina, mediante enzimas β -lactamasas (penicilinasas). El resultado de todo esto fue la aparición de bacterias con un amplio espectro de resistencia y una notable capacidad para poder sobrevivir y propagarse en los medios hospitalarios⁽¹²⁾.

En los ECN, y en particular en el *S. epidermidis*, han sido reconocidos como las bacterias más resistentes a los antibióticos más comunes que se identifican en los hospitales. Entre las especies más resistentes se menciona ha: *S. epidermidis*, *S. hominis* y *S. haemolyticus*, que también han resultado ser las especies más comunes que se encuentran en muestras clínicas⁽¹³⁾.

A principios de los años 1960, la introducción de las penicilinas semisintéticas resistentes a las β -lactamasa, como la meticilina y oxacilina, provocó una disminución general de la prevalencia de *S. aureus* multirresistente. Sin embargo, la introducción de la meticilina en la práctica clínica, entre 1959 y 1960, resolvió este problema solo por poco tiempo. En 1961 se identificaron las primeras cepas de SARM, sin embargo era rara su aparición en los Estados Unidos entre los años de 1960 y 1970. Pero, a partir de la década de 1970, el número de cepas de SARM comenzó a aumentar y ha seguido haciéndolo hasta la actualidad⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Los hospitales fueron los primeros en informar la presencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) como un agente patógeno hospitalario (SARM-H). Sin embargo desde la década de 1990, SARM también se ha transformado en una preocupación para las personas que no han sido hospitalizadas. Las cepas que causan tales infecciones se denominan SARM adquiridas en la comunidad (SARM-C)⁽¹⁵⁾.

La mayoría de hospitales estadounidenses informa que la frecuencia de SARM está entre el 5% y 25%, pero los brotes intrahospitalarios siguen incrementándose y se informa de tasas de incidencia de hasta 50% en otros países^(16,17). Las cepas de *S. aureus* que son catalogadas como resistentes a la meticilina pueden presentar resistencia cruzada a otros antibióticos, como la clindamicina y la eritromicina⁽¹⁸⁾.

Con el tiempo han ido apareciendo nuevos antibióticos como alternativas de tratamiento como la vancomicina, clindamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, linezolid, los macrólidos, y usado en combinación con otros agentes, como la rifampicina y gentamicina. Sin embargo, con el mayor uso de estos antibióticos, los *Staphylococcus* han ido adquiriendo resistencia a estas alternativas^(19,20).

El *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina hospitalario (SARM-H) son generalmente multirresistentes y tienen factores determinantes de resistencia a las fluoroquinolonas, aminoglucósidos, macrólidos, cetólidos, azálidos, clindamicina y tetraciclinas clásicas. Por ello, se señaló a los glucopéptidos (vancomicina, teicoplanina) como la alternativa de tratamiento contra SARM durante muchos años. Sin embargo, a mediados de la década de los 90, han surgido cepas con una concentración inhibitoria mínima (CIM) disminuidas para glucopéptidos. Durante la última década, en los Estados Unidos se han detectado seis aislados resistentes a vancomicina (CIM \geq 64 mg/L). En cambio, los SARM-C son resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos, pero conservan la sensibilidad a otros antibacterianos, como aminoglucósidos, fluoroquinolonas, clindamicina y tetraciclinas⁽²¹⁾.

En el caso de los ECN aislados en ambientes nosocomiales son casi siempre resistentes a múltiples antibióticos. En un estudio de vigilancia epidemiológica de gran envergadura efectuado en América del Norte, el 87,5% de las cepas aisladas presentó resistencia a oxacilina, penicilina (93,5%), ciprofloxacino (65,6%), eritromicina (73%), clindamicina (52%) y trimetoprima-sulfametoxazol (48%)⁽²²⁾. A pesar de que hasta el momento no han sido aislados estafilococos coagulasa-positivos con positividad para el gen *vanA*, se han observado casos de incremento del CIM frente a los antibióticos glucopéptidos, especialmente por parte de *S. haemolyticus*⁽²³⁾.

2. RESISTENCIA A MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS B (MLS_B)

2.1. LOS ANTIBIÓTICOS MLS_B Y SU ESPECTRO DE ACTIVIDAD

Los macrólidos se componen de un mínimo de 2 aminoácidos o azúcares neutros unidos a un anillo de lactona de tamaño variable. Estos antibióticos pueden dividirse en macrólidos

de 14 átomos (claritromicina, diritromicina, eritromicina), 15 átomos (azitromicina) y 16 átomos (espiramicina, josamicina)^(24,25).

Las lincosamidas no presentan un anillo de lactona en su estructura. Estos antibióticos incluyen un aminoácido y un azúcar, unidos por una amina. Las lincosamidas tienen dos representantes: la lincomicina y la clindamicina. Este último, es un derivado químicamente modificado de la lincomicina, que permite una mejor farmacocinética (absorción oral) y actividad antibacteriana⁽²⁶⁾.

Las estreptograminas, al igual que los macrólidos y las lincosamidas, son producidas por especies de *Streptomyces* y son péptidos cíclicos que se conforman por la combinación de 2 moléculas: A y B (II y I en pristinamicina, y M y S en la virginamicina) que actúan de manera sinérgica^(25,27).

El espectro antibacteriano de estos antibióticos está dirigido contra cocos grampositivos (principalmente *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*), bacilos grampositivos, cocos gramnegativos y bacterias intracelulares (*Chlamydia* y especies de *Rickettsia*). Estos fármacos, especialmente clindamicina, también son potentes contra las bacterias anaeróbicas⁽²⁵⁾.

2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS MLS_B

Los MLS_B poseen un mecanismo de acción similar contra las bacterias, ya que todos ellos tienen como objetivo principal inhibir la síntesis de proteínas bacterianas, mediante su unión a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, más específicamente, cerca del centro de la enzima peptidiltransferasa. (PTC). Este centro se encuentra formado por rARN 23S y cataliza la formación de enlaces peptídicos durante la elongación de la proteína. El rARN

23S presenta dos dominios importantes, que son puntos clave de unión de lo MLS_B: dominio V y II^(28,29).

Las lincosamidas y algunos macrólidos inhiben la reacción de la PTC, inhibiendo así la síntesis de proteínas al unirse al rARN 23S. En cambio, los macrólidos y las estreptogramina de tipo B no inhiben la reacción de la PTC en sí. Estos dos últimos, bloquean la entrada del túnel en la subunidad ribosómica grande (50S), a través del cual las cadenas de péptidos que empiezan a formarse salen del ribosoma. El bloqueo de la salida del túnel por macrólidos induce la disociación prematura de peptidil-tARN del ribosoma. Este tipo de acontecimientos se producen justo después de la iniciación de la síntesis de proteínas, cuando la cadena de polipéptido naciente es corta. En contraste, los ribosomas que han formado polisomas son refractarios a la droga⁽²⁹⁾.

2.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS MLS_B

La resistencia a los MLS_B en *Staphylococcus* puede ocurrir a través de tres mecanismos distintos: A) la modificación del sitio diana de unión del antibiótico, B) bomba de flujo de salida (eflujo) del antibiótico y/o C) Inactivación del antibiótico⁽²⁵⁾.

A) Modificación del sitio diana de unión del antibiótico: Los estudios determinaron primero este mecanismo de resistencia en la eritromicina, el cual era debido a una modificación post-transcripcional del rARN 23S por la enzima N-metiltransferasa-adenina (metilasa) codificada por una familia de genes que llevan el nombre de *erm* (eritromicina ribosoma metilación, *ermA*, *ermB* y *ermC*). La enzima produce una metilación de un residuo de adenina, ubicada en una región conservada del dominio V del rARN 23S presente en la subunidad grande (50S), modificando así el punto diana de unión. Como consecuencias de esta alteración y del mecanismo compartido, de los

antibióticos MLS_B, se origina una resistencia cruzada, afectando así a la clindamicina⁽³⁰⁾.

La resistencia mediada por metilación, tiene dos formas de expresión: puede ser constitutiva o inducible. En la RIC, las bacterias producen un mRNA metilasa inactivos, que no es capaz de codificar la enzima metilasa. El mRNA metilasa se activa sólo en presencia de un inductor, como los macrólidos (inductor fuerte) o la clindamicina (inductor débil). Por el contrario, en la expresión constitutiva (cMLS_B) el mRNA metilasa activo se produce de manera constante en la ausencia de un inductor. La presencia de un inductor conduce a reordenamientos de mRNA, que permiten a los ribosomas traducir la secuencia que codificación a la metilasa⁽²⁵⁾.

Los genes más frecuentes encontrados en especies de estafilococos son los genes *ermA* y *ermC*, y con menor frecuencia el gen *ermB*, e incluso este último gen se encuentra ausente dependiendo de la ubicación geográfica. Los diferentes estudios han demostrado las diferencias geográficas tanto de la resistencia iMLS_B como de los genes *erm*^(31,32). Por ejemplo en un estudio hecho en Turquía, se encontró que la resistencia iMLS_B fue más prevalente (51%) en *S. aureus* mediada por el gen *ermA* (62%), mientras que otros estudio del mismo país el gen más prevalente era el gen *ermC*⁽³²⁾. En estudios adicionales, se señala que la resistencia iMLS_B mediada por el gen *ermA* se presentaría en *S. aureus* y el gen *ermC* sería más prevalente en ECN⁽³³⁾.

Algunos estudio o revisión han asociado el gen *ermA* con cepas resistentes a la meticilina y el gen *ermC* asociado a cepas susceptibles a la meticilina⁽²⁵⁾. Otros estudio han reportado que la mayoría de SASM (*S. aureus* sensible a meticilina) y SARM-H (*S. aureus* resistente a meticilina hospitalario) tenían un fenotipo iMLS_B codificada por cualquiera de los genes *ermA* o *ermC*. En contraste los SARM-C (*S. aureus* resistentes

a la meticilina comunitarios) aislados, a menudo tenía un fenotipo cMLS_B codificada por *ermB*⁽³⁴⁾. En un estudio similar al anterior se reporta que la resistencia iMLS_B, mediada por el gen *ermC*, es más frecuente en SASM⁽³⁵⁾.

B) Resistencia por bomba de eflujo: La resistencia a los macrólidos, por bombas de eflujo en especies de *Staphylococcus*, es causada por el transportador ATP-binding-cassette (ABC), que es codificada por los genes *msr* (*msrA* y *msrB*). Originalmente se identificó este gen en el *S. epidermidis*, luego se encontró en diferentes especies de este género, lo que incluye al *S. aureus*. En este mecanismo de resistencia no se modifica el objetivo del antibiótico, sino se expulsa el antibiótico fuera de la célula por el transportador ABC, de tal forma que las concentraciones intracelulares del antibiótico son bajas y se mantienen lejos de los ribosomas. Las bombas ABC confieren resistencia a los macrólidos y las estreptograminas del grupo B, por ello esta resistencia se conoce como MS_B. La resistencia se expresa de manera inducible. Los macrólidos de 14 y 15 átomos de carbono son inductores, mientras estreptograminas B no lo son. Por lo tanto, las cepas son resistentes a las estreptograminas B sólo después de la inducción con eritromicina. La clindamicina no es un inductor ni un sustrato para la bomba ABC, y por lo tanto las cepas son totalmente susceptibles a este último antimicrobiano^(36,37).

C) Resistencia por inactivación del antibiótico: Ese mecanismo de resistencia se informó primero en especies de *Staphylococcus* de origen animal, luego se empezaron a detectar en aislados clínicos humanos, principalmente ECN. Esta resistencia solo afecta a las lincosamidas, y es debida a una enzima conocida como O-nucleotidiltransferasa 4-lincosamida, que agrega un nucleótido al grupo hidroxilo en la posición 4 de la lincomicina y clindamicina, lo que inactiva el antibiótico. El gen responsable de codificar esta enzima es el gen *Inu*⁽³⁸⁾. Dicha resistencia es rara en *S.*

aureus, habiendo sido encontrado en menos del 1% de las cepas, pero es más frecuente en los ECN, con una frecuencia estimada de 1% a 7% de las cepas, dependiendo de las especies de *Staphylococcus*, de los cuales *S. epidermidis*, *S. cohnii* y *S. haemolyticus* son los más frecuentes^(25,38).

3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA iMLS_B

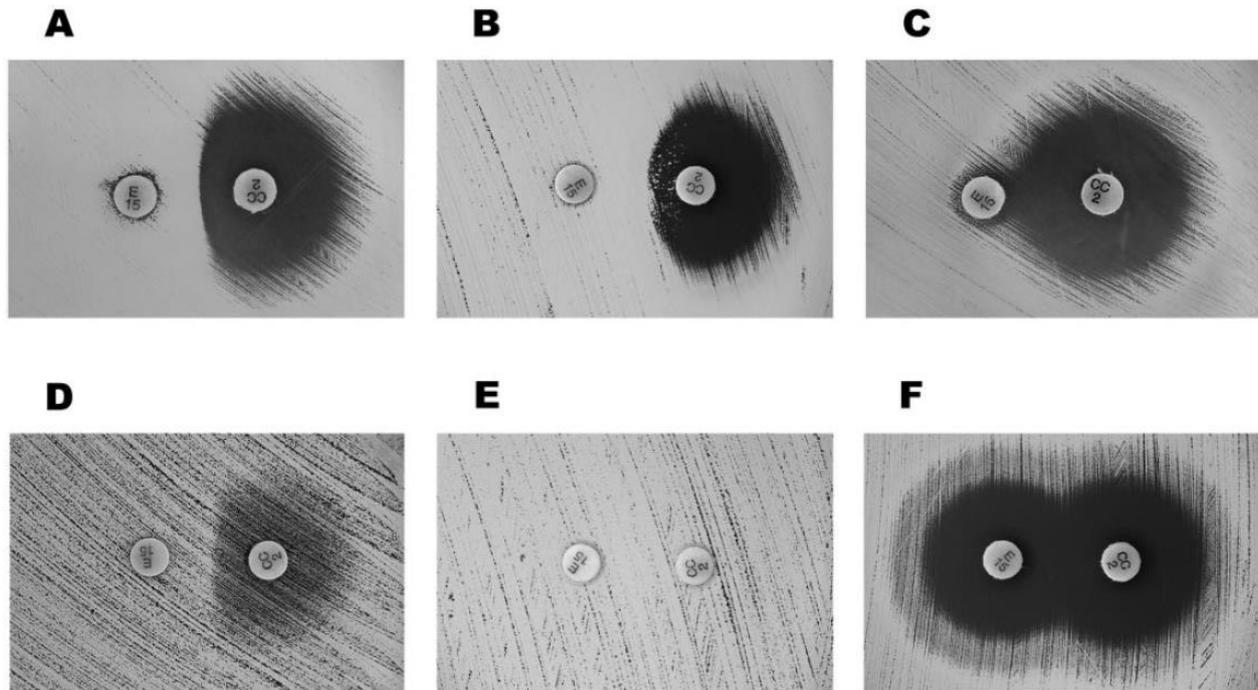
La resistencia iMLS_B no puede ser detectada con los métodos convencionales de microdilución en caldo o disco difusión en placa (método de Kirby- Bauer). Los métodos para evaluar la resistencia iMLSB son recomendados por la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) en el documento M100-S25, donde se describe dos métodos: el test de inducción con doble disco difusión (D-test) y el método microdilución en caldo utilizando la combinación de ambos antimicrobianos (eritromicina y clindamicina)^(39,40).

La prueba de D-test ha demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad en comparación con el análisis genotípico, por ello el CLSI lo recomienda como método de referencia. En un estudio realizado por Lavallée *et al.*, 133 de 134 aislados de *Staphylococcus* D-test positivos también fueron PCR positivos para los genes *ermA* o *ermC*, y 29 de 29 aislamientos D-test negativos fueron PCR negativo para los genes *ermA/C*. Esto sugiere una alta correlación entre el D-test y el mecanismo molecular subyacente^(7,41).

En los documentos M100 del CLSI se menciona dos fenotipos de resistencia a clindamicina mediante la prueba de D-test: resistencia inducida y resistencia constitutiva (o no inducible). Sin embargo, antes de la publicación de las recomendaciones del CLSI (2004), otros estudio habrían identificado otros fenotipos. Se encontró dos fenotipos distintos de inducción (fenotipo D y D+) y cuatro fenotipos distintos no inducibles (fenotipo N, HD, R y S).⁽⁴²⁾ **(FIGURA N°1)**

Figura N°1

Esta figura muestra los seis fenotipos observados durante el test de inducción a clindamicina. **E15**: disco de eritromicina (15 µg); **CC2**: Disco de clindamicina (2 µg). **A**: Fenotipo D; **B**: Fenotipo D+; **C**: fenotipo N; **D**: fenotipo HD; **E**: fenotipo R; **F**: fenotipo S.



(Fuente: Steward CD *et al*, 2005)

El fenotipo D es el fenotipo clásico como se indica en el CLSI, donde se observa el aplanamiento del borde del halo (pero este borde es nítido sin microcolonias) de la clindamicina adyacente al disco de eritromicina. En cambio, en el fenotipo D+ se observa mismo halo anterior, pero en el lado aplanado se presentan pequeñas colonias. Mediante pruebas de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) las cepas con fenotipo D presentaban el gen *ermA*, y las cepas con fenotipo D+ contenían el gen *ermC*, acompañados o no con el gen *ermA*⁽⁴²⁾.

En el fenotipo N (negativo), en la placa de cultivo se observa un halo de resistencia para la eritromicina y un halo de susceptibilidad para la clindamicina sin aplanamiento del halo, este fenotipo se asocia al gen *msrA*. En el fenotipo se HD (nebuloso) se observa crecimiento alrededor de los dos disco, pero también se observa un halo de sensibilidad borroso

(cubierto por las colonias) con un aplanamiento de halo en el disco clindamicina. Por PCR las cepas presentan los genes *ermA*, *ermC* y *msrA*. EL crecimiento homogéneo alrededor de ambos discos sin ninguna zona de inhibición en el interior de los halos, como en el caso anterior, se le denomina fenotipo R (resistente, lo que refiere a la resistencia cMLS_B). Por lo general, presentaban los genes *ermA*, *ermB* y *ermC*. El último fenotipo muestra halos de sensibilidad para ambos discos, por lo tanto el fenotipo se denomina fenotipo S (sensible)^(9,42,43).

Existen también sistemas automatizados para la detección de la RIC, como el sistema Vitek2 o el sistema Phoenix, que además permiten calcular la concentración inhibitoria mínima (CIM). Sin embargo algunos estudio han cuestionado su sensibilidad y especificidad, en comparación con el D-Test^(44,45).

4. IMPORTANCIA DE LA DETECCIÓN DE LA RESISTECNIA iMLS_B

Como se sabe, la RIC suele presentarse cuando la cepa es resistente a la eritromicina, lo que ha orientado a los clínicos a categorizar a todos los aislamientos de *Staphylococcus* con resistentes a la eritromicina como resistentes a la clindamicina, siendo en algunos casos un error, porque la infección puede deberse a *Staphylococcus* que tienen mecanismos de resistencia que solo afectan a la eritromicina y no a la clindamicina (dependiendo del mecanismo de resistencia presente), lo que impediría una terapia segura y eficaz^(8,46). En Investigaciones anteriores, se menciona que la prevalencia de la resistencia iMLS_B es muy variable, desde 2,2% a 94,0% en poblaciones pediátricas. Esta variación depende de la región geográfica, pueden variar de hospital en hospital, se afecta por la edad, la especie bacteriana y el perfil de susceptibilidad^(8,39,47). Lo cual apoyan la necesidad de una correcta identificación e interpretación del perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos en el laboratorio. Por ello, la correcta detección de la resistencia iMLS_B, por

el D-test, puede evitar fallas potenciales de tratamiento, de tal forma que la clindamicina se puede utilizar con eficacia y prudencia cuando está indicado para las infecciones por *Staphylococcus*^(2,43,48).

En nuestro país no existen estudios sobre la frecuencia de la resistencia iMLS_B donde se incluya a todo el género *Staphylococcus* (es decir al *S. aureus* y a los ECN), y que se centren en alguna población pediátrica. En una carta al editor, realizada por María Quispe y Rito Zerpa en el 2013, nos habla sobre la importancia y necesidad de detectar la resistencia iMLS_B en *S. aureus* en pacientes del Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN)⁽⁶⁾. Basados en esta información y la de otros estudios, se planteó realizar este estudio como un primer paso, para que junto con otros trabajos anteriores se realicen estudios de un mayor nivel de investigación.

Por lo mencionado, es importante conocer la frecuencia de la resistencia iMLS_B en los aislados de los pacientes de INSN, y así poder brindar información al clínico y reducir el uso de antibióticos de mayor espectro y toxicidad, por ejemplo los glicopéptidos (vancomicina), y reducir los casos de morbilidad y mortalidad debido a los *Staphylococcus* (sobre todo los SARM)^(2,49,50).

Así mismo, el estudio permite contribuir con información sobre la distribución epidemiológica de la resistencia iMLS_B en aislamientos de *Staphylococcus* en la población pediátrica del INSN. Además de lo mencionado, el estudio sirve de apoyo para el desarrollo de estrategias sanitarias para el control y prevención en casos de brotes hospitalarios y/o comunitarios, debido a que la resistencia puede aparecer de forma repentina y podría diseminarse⁽⁹⁾.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio fue conformada por todos los aislamientos de *Staphylococcus* de las muestras clínicas que fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz del INSN entre los meses de octubre del 2015 y enero del 2016, de los pacientes hospitalizados y consulta externa: pacientes ambulatorio y de emergencia.

3. ÁREA DE ESTUDIO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz” ubicado en el distrito de Breña, provincia de lima, departamento de Lima, y además se coordinó con la sección científica de Bacteriología del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4. RECOLECCIÓN DE LOS AISLAMIENTOS DE *Staphylococcus*

Se recolectaron 203 aislamientos de *S. aureus* y ECN de las muestras clínicas de pacientes menores de 18 años del INSN, atendidos entre octubre del 2015 y enero del 2016, las mismas que fueron recolectados de forma consecutiva no repetida.

5. VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables a estudiar son: la resistencia inducida a la clindamicina, fenotipos de expresión de resistencia a clindamicina, resistencia a meticilina, tipo de muestra y procedencia del paciente.

6. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se utilizó en el presente estudio fue la observación, utilizando además como instrumento fichas debidamente elaboradas y ordenadas donde se registraron todos los datos que se recopilaban durante la investigación, los cuales fueron organizados en una base de datos para su análisis. (**ANEXO N°1**)

7. PLAN DE PROCEDIMIENTOS

7.1. COORDINACIÓN INSTITUCIONAL

Se presentó una solicitud a la Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada (OEAIDE) del Instituto Nacional de Salud del Niño para su evaluación por el Comité de Ética e Investigación y a la jefa del Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz”, para contar con la autorización y apoyo en la respectiva aplicación del estudio.

7.2. MATERIAL BIOLÓGICO

El material de estudio fueron las cepas de *Staphylococcus* aislados e identificados (según sus protocolo o manuales de trabajo del Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz”, **ANEXO N°2**) como *S. aureus* y ECN de las muestras clínicas de sangre, orina, catéter, piel, vías respiratorias y LCR, las cuales fueron repicadas por duplicado en caldo

tripticosa de soya (TSB) con glicerol al 20%, incubadas a 35°C entre 18 a 24 horas y posteriormente almacenados a -20°C, hasta la realización del D-test para identificar la RIC.

El duplicado del aislamiento fue almacenado en el Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión, el cual fue almacenado bajo las mismas condiciones.

7.3. DATOS DE LA MUESTRA

Los datos fueron obtenidos de los registros del laboratorio y/o las solicitudes de análisis de los pacientes, que fueron anotados en las fichas de recolección de datos. (**ANEXO N°1**)

7.4. TEST DE INDUCCIÓN CON DOBLE DISCO DIFUSIÓN

Se preparó una suspensión de cada muestra de estudio aislada e identificada correctamente, con una turbidez de la escala de Mac Farland de 0,5. Luego se procedió a inocular la suspensión preparada en el agar Mueller Hinton con un hisopo de algodón estéril mediante la técnica de siembra en tapete. Después de la siembra, se colocaron los discos de eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg) en las respectivas placas. La separación de los discos fue entre 15 y 20 mm de distancia (promedio de 18 mm) medido de borde a borde (**ANEXO N°3**). Después de una incubación a una temperatura de 35 °C por 18 o 24 horas se leyeron los halos de inhibición con los siguientes posibles resultados (según Steward CD *et al*, 2005) (**Figura N°1**):

a) Resistencia inducible a la clindamicina positivo. Este resultado puede tener los siguientes fenotipos:

- **Fenotipo D (D test positivo clásico):** presencia de un halo claro en forma de D en la zona del disco de la clindamicina próxima al de eritromicina.
- **Fenotipo D+:** D test positivo con microcolonias en la zona de inhibición.

b) Resistencia inducible a la clindamicina negativo. Este resultado puede tener los siguientes fenotipos:

- **Fenotipo N:** halos bien definidos con resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina.
- **Fenotipo HD:** crecimiento alrededor de los dos disco, pero también se halo de sensibilidad borroso con un achatamiento de halo en el disco clindamicina.
- **Fenotipo R:** resistencia a ambos antimicrobianos expresada por la ausencia de halo o halos reducidos. Resistencia constitutiva a la clindamicina.
- **Fenotipo S:** sensible a ambos antimicrobianos.

7.5. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A LA METICILINA

En la misma placa donde se realizó el D-Test se colocó el disco de cefoxitina de 30 µg. posteriormente incubados a la temperatura de 35 °C por 18 o 24 horas. Pasado dicho tiempo se leyeron los halos de inhibición. (**ANEXO N°3**)

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Las múltiples variables se analizaron en tablas de frecuencia, y para evaluar si existe relación estadísticamente significativa entre las variables se utilizó la prueba de Chi cuadrado, con $p < 0,05$. También se utilizaron gráficos de barras y sectores para representar los resultados de frecuencia. Para el análisis de los datos, se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 22 y Excel 2010.

V. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA

Se analizaron 203 aislamientos después de su descongelamiento. De estos aislamientos 18,7% (38/203) eran *S. aureus* y 81,3% (165/203) correspondían al grupo de los estafilococos coagulasa negativo (ECN). El 79,4% (131/165) de los ECN fueron identificados a nivel de especie y 20,6% (34/165) fueron *Staphylococcus* de especies desconocidas (**Tabla N°1**).

Tabla N° 1

Frecuencia de *Staphylococcus* según la especie bacteriana aisladas en el Instituto Nacional de Salud del Niño. Octubre 2015 a Enero 2016 (n = 203)

Espece Bacteriana	N° de aislados	%
<i>S. hominis</i>	52	25,6%
<i>S. epidermidis</i>	43	21,2%
<i>S. aureus</i>	38	18,7%
<i>S. haemolyticus</i>	20	9,9%
<i>S. saprophyticus</i>	4	2,0%
<i>S. capitis</i>	3	1,5%
<i>S. cohnii</i>	2	1,0%
<i>S. lugdunensis</i>	2	1,0%
<i>S. warneri</i>	2	1,0%
<i>S. auricularis</i>	2	1,0%
<i>S. sciuri</i>	1	0,5%
ECN	34	16,7%
TOTAL	203	100%

Respecto a los tipos de muestras de donde fueron aisladas las cepas de estudio, la mayoría fueron muestras de sangre, que representan el 77,3% (157/203) del total de muestras. De donde fueron aisladas la mayor cantidad de ECN. Los *S. aureus* fueron aislados mayormente de infección de piel (**Tabla N°2**).

Tabla N°2

Frecuencia del tipo de muestra de donde fueron aisladas las cepas en estudio del Instituto Nacional de Salud del Niño. Octubre 2015 a Enero 2016 (n = 203)

Tipo de muestra	Especie bacteriana		N° de muestras %
	<i>S. aureus</i>	ECN	
Sangre	9 23,68%	148 89,70%	157 77,3%
Catéter	1 2,63%	14 8,48%	15 7,4%
Piel	14 36,85%	0 0,0%	14 6,9%
Vías respiratorias	9 23,68%	0 0,0%	9 4,4%
Orina	4 10,53%	2 1,21%	6 3,0%
LCR	1 2,63%	1 0,61%	2 1,0%
TOTAL	38 100%	165 100%	203 100%

Teniendo en cuenta la procedencia de los pacientes, los *Staphylococcus* provinieron principalmente de los pacientes de consulta externa, 53,7% (109/203) del total de pacientes atendidos. Respecto al *S. aureus*, fue más frecuente en pacientes hospitalizados, y los ECN fueron más frecuentes en pacientes de consulta externa. (**Tabla N°3**).

Tabla N°3

Frecuencia de la procedencia de atención de pacientes de donde se aislaron las cepas en estudio del Instituto Nacional de Salud del Niño. Octubre 2015 a Enero 2016 (n = 203)

Procedencia del paciente	Especie bacteriana		N° de pacientes %
	<i>S. aureus</i>	ECN	
Hospitalizados	23 60,5%	71 43,0%	94 46,3%
Consulta externa	15 39,5%	94 57,0%	109 53,7%%
Total	38 100	165 100%	203 100%

2. *Staphylococcus* CON RESISTENCIA INDUCIDA A CLINDAMICINA

De las 203 muestras analizadas, se encontraron 16 aislamientos de *Staphylococcus* que presentaron RIC, lo que representa una frecuencia de 7,9% (16/203) del total de muestras analizadas (**Gráfico N°1**). Cabe mencionar que la frecuencia de RIC en los *S. aureus* fue casi el doble de los ECN, 13,2% (5/38) contra 6,7% (11/165) respectivamente. (**Tabla N°4**).

Gráfico N°1



Tabla N°4

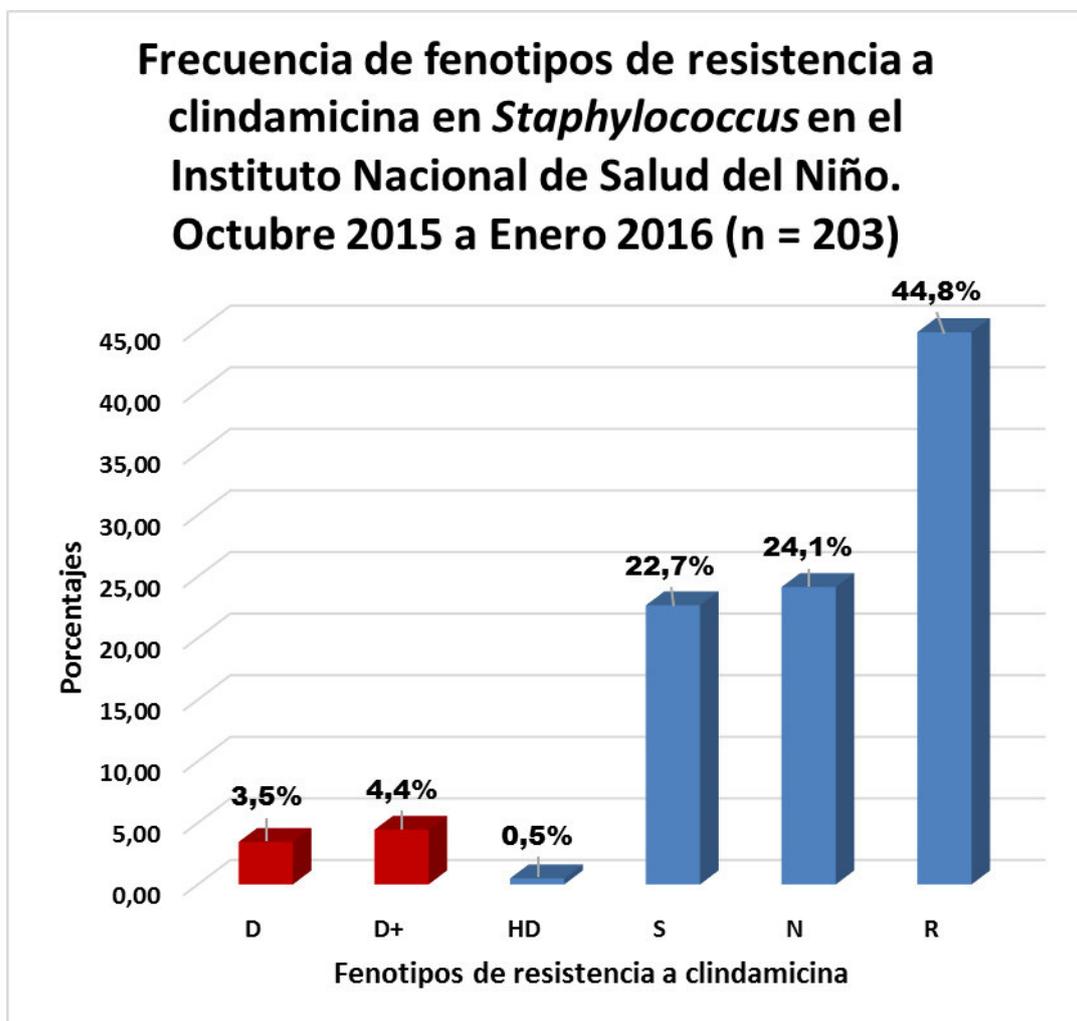
Frecuencia de resistencia inducida a clindamicina según sea *S. aureus* o estafilococos coagulasa negativo aislados del INSN. Octubre 2015 a Enero 2016. (n = 203)

<i>Staphylococcus</i>	Resistencia inducida a clindamicina (RIC)		Total
	Positivo	Negativo	
<i>S. aureus</i>	5 13.2%	33 86.8%	38 100.0%
ECN	11 6.7%	154 93.3%	165 100.0%

3. FENOTIPOS DE RESISTENCIA A CLINDAMICINA EN *Staphylococcus*

En el **Gráfico N°2** se puede observar que el fenotipo de resistencia a clindamicina más frecuente es el fenotipo R, con una frecuencia de 44,8% (91/203). Si a este último le sumamos el 0,5% (1/203) del fenotipo HD, obtenemos un 45,3% lo que representan la frecuencia de la resistencia cMLS_B. De las cepas que presentaron RIC (iMLS_B) el fenotipo más frecuente fue el D+, con una frecuencia del 4,4% (9/203).

Gráfico N°2



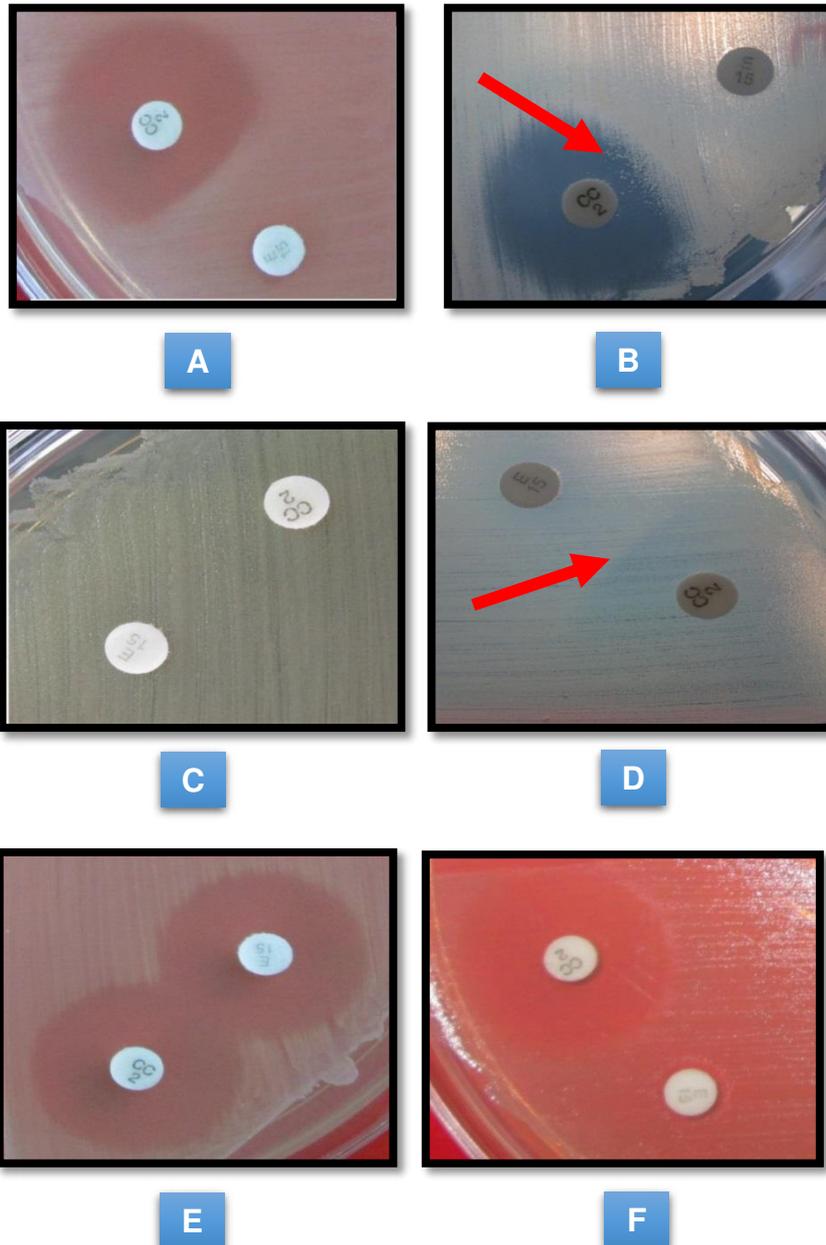
■ RIC Positivo

■ RIC Negativo

En la **Imagen N°1** podemos observar los diferentes fenotipos de resistencia a clindamicina encontrados en este estudio después de realizar el D-Test.

Imagen N°1

Imágenes de tomadas después de la prueba de D-test



A: Fenotipo D; **B:** Fenotipo D+; **C:** Fenotipo R; **D:** Fenotipo HD; **E:** Fenotipo S; **F:** Fenotipo N. La flecha en la **figura B** señala las microcolonias en la zona de achatamiento. La flecha en la **figura D** señala una zona de achatamiento borrosa típica del fenotipo HD

4. RESISTENCIA iMLS_B SEGÚN LA PROCEDENCIA DEL PACIENTE, SUSCEPTIBILIDAD A METICILINA Y EL TIPO DE MUESTRA.

En la **Tabla N°5** los aislamientos estudiados se agruparon según los resultados sean positivos o negativos para la RIC y fueron contrastados con las siguientes variables: procedencia de los pacientes, perfil de susceptibilidad a meticilina y el tipo de muestra.

Tabla N°5

Frecuencias de resistencia inducida a clindamicina según la procedencia del paciente, susceptibilidad a meticilina y el tipo de muestra en los aislados de *Staphylococcus* del INSN. Octubre 2015 a Enero 2016. (n = 203)

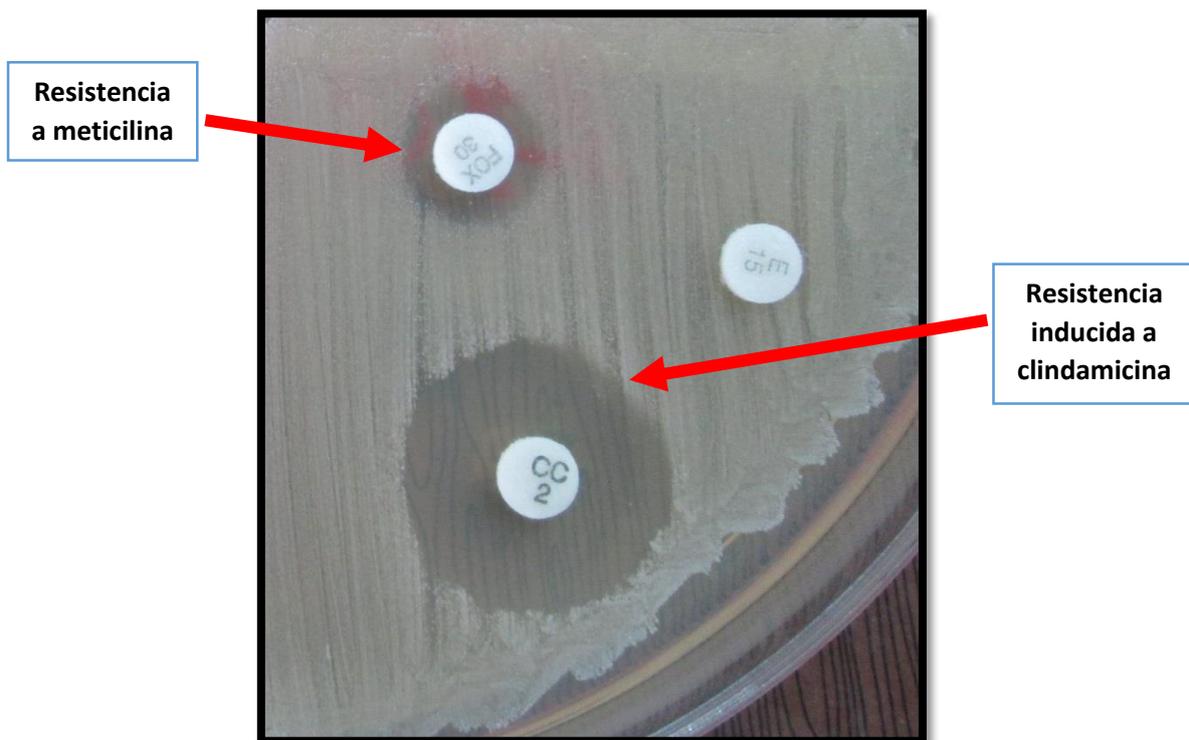
Variable	Resistencia inducida a clindamicina (RIC)		Total	p valor
	Positivo	Negativo		
Procedencia del paciente				
Hospitalizado	4 25%	90 48,1%	94 46,3%	0,075
C. externa	12 75%	97 51,9%	109 53,7%	
Susceptibilidad a meticilina				
Resistente	9 56,25%	131 70,1%	140 69%	0,252
Sensible	7 43,75%	56 29,9%	63 31%	
Tipo de muestra				
Sangre	13 81,25%	144 77%	157 77,3%	0,595
Catéter	0 0.0%	15 8%	15 7,4%	
Piel	2 12,5%	12 6,4%	14 6,9%	
Vías respiratorias	0 0.0%	9 4,8%	9 4,4%	
Orina	1 6,25%	5 2,7%	6 3%	
LCR	0 0.0%	2 1,1%	2 1%	

En esta **Tabla N°5** se puede observar una mayor frecuencia de RIC en los pacientes de consulta externa, con un 75% (12/16), que en los pacientes hospitalizados, 25% (4/16). Respecto a la susceptibilidad a meticilina se encontró una mayor frecuencia de RIC en los aislamientos resistentes a la meticilina, con un 56,25% (9/16) (**Imagen N°2**). Por ultimo según el tipo de muestra, encontró mayor frecuencia de RIC en las muestras de sangre (hemocultivos), con un 81,25% (13/16).

Para determinar si existe alguna relación estadística significativa entre la frecuencia de la RIC y las otras variables de contraste, se calculó el p valor, cuyo valor fue no significativo para los tres casos. Se trabajó con un nivel de confianza de 0.05% en todos los casos.

Imagen N°2

En la imagen se puede apreciar la resistencia conjunta de RIC y resistencia a meticilina



Si nos centramos en las cepas de ECN, tampoco se encontró una diferencias estadísticas significativas para en ninguno de los tres casos (**Tabla N°6**). El análisis de los datos se realizó bajo las mismas condiciones que el anterior.

Tabla N°6

Frecuencias de resistencia inducida a clindamicina según la procedencia del paciente, susceptibilidad a meticilina y el tipo de muestra en los aislados de estafilococos coagulasa negativo del INSN. Octubre 2015 a Enero 2016. (n = 165)

Variable	Resistencia inducida a clindamicina (RIC)		Total	p valor
	Positivo	Negativo		
Procedencia del paciente				
Hospitalizado	3 27.3%	68 44.2%	71 43.0%	0,275
C. externa	8 72.7%	86 55.8%	94 57.0%	
Susceptibilidad a meticilina				
Resistente	8 72.7%	116 75.3%	124 75.2%	0,847
Sensible	3 27.3%	38 24.7%	41 24.8%	
Tipo de muestra				
Sangre	10 90.9%	138 89.6%	148 89.7%	0,069
Catéter	0 0.0%	14 9.1%	14 8.5%	
Orina	1 9.1%	1 0.6%	2 1.2%	
LCR	0 0.0%	1 0.6%	1 0.6%	

Sin embargo, en las cepas de *S. aureus* se encontró una diferencia significativa entre los resultados de la RIC y la procedencia de los pacientes, donde se observa que los pacientes de consulta externa presentan mayor frecuencia de RIC, 80% (4/5) (**Tabla N°7**). Con un p valor significativo de 0,047. Para los otros dos casos, el p valor fue no significativo.

Tabla N°7

Frecuencias de resistencia inducida a clindamicina según la procedencia del paciente, susceptibilidad a meticilina y el tipo de muestra en los aislados de *Staphylococcus aureus* del INSN. Octubre 2015 a Enero 2016. (n = 38)

Variable	Resistencia inducida a clindamicina (RIC)		Total	p valor
	Positivo	Negativo		
Procedencia del paciente				
Hospitalizado	1 20%	22 66,7%	23 60,5%	0,047
C. externa	4 80%	11 33,3%	15 39,5%	
Susceptibilidad a meticilina				
Resistente	1 20%	15 45,5%	16 42,1%	0,283
Sensible	4 80%	18 54,5%	22 57,9%	
Tipo de muestra				
Sangre	3 60,0%	6 18,2%	9 23,7%	0,359
Catéter	0 0,0%	1 3,0%	1 2,6%	
Piel	2 40,0%	12 36,4%	14 36,8%	
Vías respiratorias	0 0,0%	9 27,3%	9 23,7%	
Orina	0 0,0%	4 12,1%	4 10,5%	
LCR	0 0,0%	1 3,0%	1 2,6%	

VI. DISCUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio muestran diferencia con los encontrados tanto a nivel nacional como internacional. Como se menciona y observa en diferentes estudios, la prevalencia de resistencia inducida a clindamicina (RIC o iMLS_B) suele variar mucho dependiendo del área geográfica, he incluso entre hospitales de un mismo país⁽⁵¹⁻⁵³⁾. El primer estudio realizado por Azap *et al.*, Turquía 2005, estudiaron 216 cepas de *S. aureus* y 192 cepas de ECN aisladas de muestras clínicas de un hospital universitario y con una prevalencia de resistencia a eritromicina de 51,5%%, determinó que la frecuencia de iMLS_B fue de 12,3%,⁽⁵⁴⁾. Ciraj *et al.*, India 2009, detectaron un frecuencia de 13,1% de iMLS_B de 244 cepas estudiadas (150 *S. aureus* y 94 ECN) aisladas de muestras clínicas de orina (122), pus (118) y exudado faríngeo (4). Dichas cepas presentaban una prevalencia de resistencia a eritromicina del 32%.⁽⁵⁵⁾ Un frecuencia muy distinta encontró Fokas *et al.*, Grecia 2005, donde a partir de 120 cepas (45 *S. aureus* y 75 ECN, donde el ECN más frecuente fue el *S. epidermidis*), aisladas de muestras clínicas de herida, pus, catéteres, orina y sangre, del Hospital General de Esparta, la frecuencia de iMLS_B fue de 44,2%. Además, el 61,7% de cepas eran resistentes a metilina⁽⁵³⁾.

En nuestra investigación hemos encontrado una frecuencia de iMLS_B por debajo de los valores internacionales, con un valor de 7,9% (16/203) entre *S. aureus* y SCN. Como se observa, existe mucha variación de la resistencia iMLS_B en diferentes partes del mundo, ya que se ve afectada por varios factores, como el área geográfica, la especie bacteriana, el perfil de sensibilidad acompañante, el tipo de muestra, la población de estudio, la exposición previa al antibiótico, etc.^(54,56)

Si comparamos los resultados obtenidos en los *S. aureus*, 13,2% (5/38), con el 4,8% (13/272) que obtuvo Tamariz y *col.* en el 2009 en nuestro país, a partir de muestras clínicas

de sangre, piel, vías respiratorias, orina y hueso, podemos observar que la iMLS_B en la población pediátrica es más que el doble a la obtenida en la población heterogénea (pacientes adultos y pediátricos, a partir de tres hospitales) estudia por dicho autor⁽⁹⁾. Del mismo modo es nuestros resultados son mayores a los encontrados por Carmona *y col.* en el 2012, en cepas de *S. aureus* a partir de hisopados nasales de una población urbano marginal, conformada por adultos y menores de edad, con una frecuencia de 7,3% (8/110)⁽³⁾. Los estudios de Tamariz, Carmona y el nuestro nos muestran un aumento de la frecuencia de RIC en nuestro país, aunque no podemos hacer una afirmación contundente, debido a las diferencia en las características de las poblaciones de estudio. Esto nos hace sospechar de un aumento del uso de la clindamicina, posiblemente usado de forma empírica y excesiva, lo que mediante la presión selectiva podría estar originando cambios en sus patrones de resistencia⁽¹¹⁾.

Si se comparan los resultados con estudios internacionales, como el de Moore *et al.*, Estados Unidos 2008, que encontraron una prevalencia de 18,6% de iMLS_B (272 de 1465 pacientes con y sin fibrosis quística) y el estudio de Shouval *et al.*, Israel 2011, que encontraron 25,8% iMLS_B (62 de 240 cepas sensibles a meticilina), nuestros resultados siguen siendo bajos. Ambos estudios incluyeron solo al *S. aureus* aislados de poblaciones pediátricas^(57,58). Estos se puede explicar por ejemplo, con lo que sucede en Japón, donde las infecciones por SARM son comunes y generalmente son multirresistentes, y ellos atribuyen que la posible causa es el alto uso de antibióticos, incluida la clindamicina, con una prevalencia de RIC de 22,8% (533 de 2341 cepas aisladas de paciente adultos y pediátricos) en un estudio hecho por Shoji *et al.* en el 2015⁽⁴⁶⁾.

En el estudio realizado por Hamilton-Miller *et al.*, Londres en el 2000⁽⁵⁹⁾, quienes estudiaron 540 cepas de *Staphylococcus*, aislados de pacientes de un hospital universitario que comprendían 210 *S. aureus* y 330 ECN, encontraron que la resistencia iMLS_B fue la más

frecuente, con 12% para *S. aureus* y 31% para los ECN. Con respecto al *S. aureus*, nuestros resultados son similares, pero son muy distintos para los ECN, de los cuales solo encontramos 6,7% de iMLS_B, además la resistencia más frecuente en nuestra población fue la cMLS_B (45,3%). Las diferencias con este estudio, pueden deberse a la mayor disponibilidad y uso de los macrólidos durante esa época, siendo estos antibióticos inductores de resistencia a clindamicina.

En otro estudio hecho por Delialioglu *et al.*, Turquía en el 2005⁽⁵²⁾, estudiaron 521 cepas de *Staphylococcus* que comprendían 230 *S. aureus* y 291 ECN, procedentes de distintas muestras clínicas, encontraron que el 7,8% de los *S. aureus* y el 14,7% de los ECN presentaron la resistencia iMLS_B, que en contraste con nuestro estudio son opuestos, y el resistencia más frecuente fue al del tipo cMLS_B, similar a nuestros resultados.

La frecuencia de fenotipos de resistencia a clindamicina, también muestra diferencias con otros estudios. Saadat *et al.*, Irán 2014⁽⁴³⁾, estudiaron 128 aislamientos de *S. aureus* encontró que el fenotipo D es más frecuente (8%) que el fenotipo D+ (2%), lo que es contrario a nuestros resultados. De los resultados negativos para la resistencia iMLS_B, el fenotipo S es el más frecuente (46%), luego le siguió el fenotipo R (36%), y solo 6% y 1% para los fenotipos N y HD respectivamente. En nuestro caso, el más frecuente fue el fenotipo R, los fenotipos N y S fueron similares entre sí. El fenotipo HD suele ser raro de encontrarse^(42,43). Moosavian *et al.*, Irán 2014, también encontraron que el fenotipo D es más frecuente (25,4%) que el fenotipo D+ (0,6%), y que el fenotipo más frecuente es el S (44,2%) similar al estudio anterior, y el 10,4% presentaron fenotipo R. No encontraron ninguna cepa con fenotipo N ni HD⁽⁶⁰⁾. En el único estudio nacional sobre fenotipos de resistencia a clindamicina, el fenotipo D+ (3,3%) fue más frecuente que el fenotipo D (1,5%), similar a nuestros resultados. El dicho estudio el fenotipo S y el fenotipo R tuvieron una alta prevalencia, 51,8% y 42,3% respectivamente, distinto a nuestro caso, ya que el fenotipo S

(22,7%) fue casi aproximadamente la mitad del fenotipo R. El fenotipo N (24,1%) fue mayor al fenotipo S. El fenotipo N no se encontró en el primer estudio hecho en nuestro país. El fenotipo HD en ambos estudio fue muy escaso⁽⁹⁾.

A pesar de que no existe una diferencia clínica significativa entre los fenotipo D y D+, es importante que el profesional del laboratorio reconozca que ambos son positivos para la RIC, a pesar de que las microcolonias presentes el fenotipo D+, en la zona de achatamiento, muestren resistencia cMLS_B. Estudios han señalado que los aislados de *Staphylococcus* pueden albergar múltiples genes de resistencia como los *erm* y/o *msr*^(42,61). Estudios moleculares señalan que los diferentes patrones de resistencia, dependería de como los macrólidos actúan sobre la presencia de un atenuador (controlador de la expresión génica del gen *erm*) que se encuentra dentro de la estructura del gen *erm*⁽²⁵⁾. Otros de los fenotipos que nos ha llamado la atención son el fenotipo R y N, que nos indica que existe una alta resistencia contra los macrólidos en esta población pediátrica. Lo que limitaría a los macrólidos como una opción de tratamiento.

La resistencia a la meticilina en los *Staphylococcus* es un problema en todas partes del mundo y que ha aumentado con el paso de los años, es así que Echevarría y col., Perú 1997, encontraron una frecuencia de 58% en cepas de este género resistentes a meticilina, estudios posteriores y en otras partes de nuestro país, como los realizados por Mendoza C. y col, Mamani E. y col, Elguera F. y col, y el informe del INS sobre resistencia antimicrobiana en hospitales de Lima en el 2007⁽⁶²⁻⁶⁶⁾. Estudio en otras partes del mundo también se encuentran con una alta tasa de estafilococos resistentes a la meticilina, como el realizado por Ekrami *et al.*, Irán entre el 2013 y 2014, quienes encontraron que el 60,2% de los estafilococos eran resistentes a la meticilina⁽⁶⁷⁾. Ante esto algunos estudios señalan a la clindamicina con un opción de tratamiento⁽⁶⁸⁾. Sin embargo, otros estudios han reportado también cepas de estafilococos resistentes a la meticilina que presentan

mecanismos de resistencia a clindamicina. Siberry *et al.*, Estados Unidos 2003, estudiaron 512 cepas de *S. aureus*, de las cuales el 8,6% presentaron ambos mecanismos de resistencia⁽⁶⁹⁾. Schreckenberger *et al.*, Estados Unidos 2004, hallaron que el 3,6% de los *S. aureus* presentaron una resistencia conjunta de iMLS_B y SARM⁽⁵¹⁾. En nuestro estudio hemos obtenido 1 aislamiento de *S. aureus* que presentó ambas resistencias, y un 4,4% (9 aislamientos) de resistencia conjunta del total de aislamientos estudiados. Hemos obtenido un *p* valor no significativo ($p > 0,05$) para la manifestación conjunta de estas resistencias, lo que es similar a lo publicado por Patel *et al.*, Estados Unidos 2006⁽⁵⁶⁾. Sin embargo, esto es distinto a lo encontrado por Tamariz *y col.* en cepas de *S. aureus*, quien encontró un valor *p* significativo, señalando que las cepas con iMLS_B fueron mayor en las cepas susceptibles a la meticilina.

Patel *et al.*, Estados Unidos 2006, encontró una asociación estadística significativa ($p < 0,05$) en cepas de *S. aureus* y la procedencia de los pacientes, afirmando que la iMLS_B es mayor en las cepas de pacientes hospitalizados⁽⁵⁶⁾, lo que es contrario a lo obtenido por Tamariz *y col.* Nuestros resultados están más acorde con los obtenidos por este último autor, donde señala que la resistencia iMLS_B es mayor en pacientes no hospitalizados⁽⁹⁾.

Como se sabe la resistencia a la meticilina está mediada por un gen *mecA*, que se encuentra en un elemento móvil llamado *cassette cromosómico estafilocócico mec* (*SCCmec*). Los *SCCmec* tipo I, II, y III se encuentran predominantemente en las cepas de SARM-H, mientras que los *SCCmec* tipo IV y V se asocian principalmente con SARM-C. Además, estos últimos tienen un menor tamaño que los *SCCmec* tipo I, II y III; y es debido a su mayor tamaño que estos *SCCmec* pueden albergar genes para otras resistencias, como los genes *erm*. Por ello, los SARM que presenten algunos de estos tres tipos de *SCCmec* son generalmente multirresistentes. Estudios han encontrado que los SARM-H con *SCCmec* tipo II podría ser la razón de que estas cepas presenten con mayor frecuencia

resistencia a la clindamicina (incluida la iMLS_B). Sin embargo, debido al aumento de los SARM en la comunidad y el mal uso de los antibióticos, han permitido que estos *SCCmec* se diseminen de los hospitales a las comunidades, y viceversa, lo cual podría explicar el aumento de resistencia conjunta de resistencia a la meticilina y clindamicina y cambios en los patrones de resistencia^(34,70–72).

Por último, tanto en nuestro estudio como en estudios internacionales y nacionales no se ha encontrado alguna relación estadística significativa entre la iMLS_B y el tipo de muestra de donde se aísla la cepa^(9,55,73).

VII. CONCLUSIONES

- ❖ En el presente estudio se encontró una baja frecuencia de resistencia inducible a clindamicina en los aislamientos de *Staphylococcus* (7,9%), a partir de las muestras clínicas procesadas en el Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz” del INSN. Las muestras de sangre presentaron mayor frecuencia de RIC.
- ❖ La frecuencia de iMLS_B en los aislados de *S. aureus* es mayor a la de los ECN, y es mayor a los datos publicados en estudios anteriores realizado en nuestro país por Tamariz, en el 2009, y Carmona, en el 2012.
- ❖ Existe una alta frecuencia de resistencia cMLS_B en los aislados de *Staphylococcus* en esta población pediátrica. Además la resistencia a macrólidos, pero sensible a clindamicina (fenotipo N) fue de 24,1%.
- ❖ La resistencia a los macrólidos fue muy alta, con una frecuencia del 77,3% del total de *Staphylococcus* estudiados. Y la sensibilidad a clindamicina fue 46,8%.
- ❖ Se demostró una asociación estadística significativa entre las iMLS_B y la procedencia del paciente en los aislados de *S. aureus*, siendo mayor la resistencia iMLS_B en pacientes atendidos en consulta externa.
- ❖ Los *Staphylococcus* analizados mostraron una alta frecuencia de resistencia a la meticilina (69%). Los *S. aureus* tienen una frecuencia de SARM de 42% (16/38) y los ECN son resistentes a la meticilina en un 75,2% (134/165).
- ❖ A pesar de no haber hallado una relación estadística significativa entre las iMLS_B y el perfil de susceptibilidad a la meticilina, el 80% de *S. aureus* que presentaron resistencia iMLS_B eran sensibles a la meticilina.

VIII. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar estudios semejantes en otras poblaciones, tanto pediátricas como adultas, de nuestro país y comparar los resultados, ya que este es un mecanismo de resistencia muy variable en su frecuencia, como los obtenidos en este estudio.
- ❖ Analizar un mayor número de aislados de *S. aureus* con el fin de confirmar si existe o no alguna asociación estadística con la resistencia a la meticilina.
- ❖ Comparar la prueba de D-test con los equipos automatizados en los distintos hospitales, y verificar si estos equipos tienen buena sensibilidad y especificidad.
- ❖ Actualizar al personal médico y del laboratorio sobre el uso racional de los antibióticos, y considerar que la resistencia a eritromicina y clindamicina puede obedecer a mecanismos de resistencia distintos.
- ❖ Realizar la vigilancia de la resistencia inducida a clindamicina en las diferentes sedes hospitalarias.
- ❖ Realizar el análisis molecular para detectar los genes *erm* que se encuentran distribuidos en nuestro país.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mamani E, Luján D, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*: Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *An Fac Med.* junio de 2006;67(2):120-4.
2. Morales GI, Yaneth MC, Chávez KM. Caracterización de la resistencia in vitro a diferentes antimicrobianos en cepas de *Staphylococcus spp.* en una institución hospitalaria de la ciudad de Valledupar entre enero y julio de 2009. *Rev Cienc Salud.* 31 de agosto de 2012;10(2):5-13.
3. Carmona E, Sandoval S, García C. Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública [Internet].* 31 de enero de 2014 [citado 7 de abril de 2015];29(2). Recuperado a partir de: <http://www.rpmesp.ins.gob.pe:8080/index.php/rpmesp/article/view/4279>
4. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease [Internet]. 2015 [citado 8 de julio de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113508003635>
5. Tan TY, Ng SY, Ng WX. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci recovered from nonsterile sites. *J Clin Microbiol.* septiembre de 2006;44(9):3413-4.
6. Quispe-Manco M del C, Zerpa-Larrauri R. Necesidad de detectar mecanismo de resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas en *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* en varicela complicada. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* octubre de 2013;30(4):714-28.
7. Montoya C I, Mira O M, Álvarez A I, Cofre G J, Cohen V J, Donoso W G, et al. Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *Rev Chil Pediatría.* febrero de 2009;80(1):48-53.
8. Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, Jorgensen JH. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol.* octubre de 2003;41(10):4740-4.
9. Tamariz Ortiz J, Quintanilla JC, Figueroa Tataje J, Horna Quintana G, Guerra Allison H. Resistencia a clindamicina inducida por eritromicina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú. *Acta Médica Peru.* enero de 2009;26(1):12-6.
10. Carmona E, Sandoval S, García C. [The frequency and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from nasal swabs in an suburban marginal population in Lima, Peru]. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* junio de 2012;29(2):206-11.
11. Jeljaszewicz J, Mlynarczyk G, Mlynarczyk A. Antibiotic resistance in Gram-positive cocci. *Int J Antimicrob Agents.* diciembre de 2000;16(4):473-8.
12. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. *Microbiol Rev.* 1 de marzo de 1987;51(1):88-134.

13. Thornsberry C. Emerging resistance in clinically important gram-positive cocci. West J Med. enero de 1996;164(1):28-32.
14. Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci. Clin Microbiol Rev. abril de 1988;1(2):173-86.
15. Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) - mrsa.pdf [Internet]. [citado 25 de agosto de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/mrsa.pdf>
16. Nafees Ahmad, James J. Plorde, W. Lawrence drew. Microbiología médica. 5.^a ed. McGraw-Hill;
17. Gunnar Jacobsson SD. The epidemiology of and risk factors for invasive Staphylococcus aureus infections in western Sweden. Scand J Infect Dis. 2007;39(1):6-13.
18. Koneman EW., Allen SD. Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas en color. 6.^a ed. USA: Editorial Médica Panamericana; 2006.
19. Bradley JS. Which antibiotic for resistant Gram-positives, and why? J Infect. enero de 2014;68 Suppl 1:S63-75.
20. GIL D de M. M. Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infectol. 2000;17(2):145-52.
21. Casellas JM. Antibacterial drug resistance in Latin America: consequences for infectious disease control. Rev Panam Salud Pública. diciembre de 2011;30(6):519-28.
22. Streit JM, Jones RN, Sader HS, Fritsche TR. Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). Int J Antimicrob Agents. agosto de 2004;24(2):111-8.
23. Sieradzki K, Villari P, Tomasz A. Decreased susceptibilities to teicoplanin and vancomycin among coagulase-negative methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. enero de 1998;42(1):100-7.
24. NUEVOS MACROLIDOS ¿SUPERAN A ERITROMICINA? - 259_265.PDF [Internet]. [citado 8 de septiembre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.sefh.es/revistas/vol19/n5/259_265.PDF
25. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 de febrero de 2002;34(4):482-92.
26. Stahl J-P. Lincosamidas. EMC - Tratado Med. 2009;13(4):1-4.
27. Estreptograminas: [Internet]. 2015 [citado 8 de septiembre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=25258&id_seccion=410&id_ejemplar=2608&id_revista=3

28. Tsui WHW, Yim G, Wang HH, McClure JE, Surette MG, Davies J. Dual Effects of MLS Antibiotics: Transcriptional Modulation and Interactions on the Ribosome. *Chem Biol.* septiembre de 2004;11(9):1307-16.
29. Tenson T, Lovmar M, Ehrenberg M. The Mechanism of Action of Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Reveals the Nascent Peptide Exit Path in the Ribosome. *J Mol Biol.* 25 de julio de 2003;330(5):1005-14.
30. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother.* marzo de 1995;39(3):577-85.
31. Coutinho V de LS, Paiva RM, Reiter KC, de-Paris F, Barth AL, Machado ABMP. Distribution of erm genes and low prevalence of inducible resistance to clindamycin among staphylococci isolates. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis.* diciembre de 2010;14(6):564-8.
32. Cetin ES, Gunes H, Kaya S, Aridogan BC, Demirci M. Distribution of Genes Encoding Resistance to Macrolides, Lincosamides and Streptogramins Among Clinical Staphylococcal Isolates in a Turkish University Hospital. *J Microbiol Immunol Infect.* 1 de diciembre de 2010;43(6):524-9.
33. Lina G, Quaglia A, Reverdy M-E, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of Genes Encoding Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramins among Staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* mayo de 1999;43(5):1062-6.
34. Ho P-L, Lai EL, Chan MY, Chow K-H. Distinctive patterns of macrolide–lincosamide–streptogramin resistance phenotypes and determinants amongst *Staphylococcus aureus* populations in Hong Kong. *Int J Antimicrob Agents.* 1 de febrero de 2011;37(2):181-2.
35. Otsuka T, Zaraket H, Takano T, Saito K, Dohmae S, Higuchi W, et al. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* marzo de 2007;13(3):325-7.
36. Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ, Baumberg S, Wootton JC. Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport super-gene family. *Mol Microbiol.* 1 de julio de 1990;4(7):1207-14.
37. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance Determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 de diciembre de 1999;43(12):2823-30.
38. Leclercq R, Brisson-Noël A, Duval J, Courvalin P. Phenotypic expression and genetic heterogeneity of lincosamide inactivation in *Staphylococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 de diciembre de 1987;31(12):1887-91.
39. Merino-Díaz L, de la Casa AC, Torres-Sánchez MJ, Aznar-Martín J. Detección de resistencia inducible a clindamicina en aislados cutáneos de *Staphylococcus* spp. por métodos fenotípicos y genotípicos. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* febrero de 2007;25(2):77-81.

40. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. M100-S25 ed. Wayne (PA), USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
41. Lavallée C, Rouleau D, Gaudreau C, Roger M, Tsimiklis C, Locas M-C, et al. Performance of an Agar Dilution Method and a Vitek 2 Card for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol.* 1 de abril de 2010;48(4):1354-7.
42. Steward CD, Raney PM, Morrell AK, Williams PP, McDougal LK, Jevitt L, et al. Testing for Induction of Clindamycin Resistance in Erythromycin-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 1 de abril de 2005;43(4):1716-21.
43. Saadat S., Solhjo K., Kazemi A., Mardaneh J. Identification of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* methicillin resistance from clinical isolates by d-zone test. *J Jahrom Univ Med Sci.* Winter de 2014;11(4):17-22.
44. Gardiner BJ, Grayson ML, Wood GM. Inducible resistance to clindamycin in *Staphylococcus aureus*: validation of Vitek-2 against CLSI D-test. *Pathology (Phila).* febrero de 2013;45(2):181-4.
45. Buchan BW, Anderson NW, Ledebor NA. Comparison of BD Phoenix and bioMérieux Vitek 2 automated systems for the detection of macrolide–lincosamide–streptogramin B resistance among clinical isolates of *Staphylococcus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1 de marzo de 2012;72(3):291-4.
46. Shoji K, Shinjoh M, Horikoshi Y, Tang J, Watanabe Y, Sugita K, et al. High rate of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates – A multicenter study in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother.* febrero de 2015;21(2):81-3.
47. Jorgensen JH, Crawford SA, McElmeel ML, Fiebelkorn KR. Detection of Inducible Clindamycin Resistance of *Staphylococci* in Conjunction with Performance of Automated Broth Susceptibility Testing. *J Clin Microbiol.* abril de 2004;42(4):1800-2.
48. Lall M, Sahni AK. Prevalence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *Med J Armed Forces India.* enero de 2014;70(1):43-7.
49. Prabhu K, Rao S, Rao V. Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples. *J Lab Physicians.* Enero de 2011;3(1):25-7.
50. Jethwani U n., Mulla S a., Shah L n., Panwala T r. Detection of inducible clindamycin resistance by an automated system in a tertiary care hospital. *Afr J Microbiol Res.* 16 de 2011;5(18):2870-2.
51. Schreckenberger PC, Ilendo E, Ristow KL. Incidence of Constitutive and Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci* in a Community and a Tertiary Care Hospital. *J Clin Microbiol.* 1 de junio de 2004;42(6):2777-9.

52. Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emekdas G. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. *Jpn J Infect Dis.* abril de 2005;58(2):104-6.
53. Fokas S, Fokas S, Tsironi M, Kalkani M, Dionysopouloy M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus* spp. *Clin Microbiol Infect.* abril de 2005;11(4):337-40.
54. Azap ÖK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruç E, Gair Ü. Incidence of inducible clindamycin resistance in staphylococci: first results from Turkey. *Clin Microbiol Infect.* 1 de julio de 2005;11(7):582-4.
55. Ciraj A, Vinod P, Sreejith G, Rajani K. Inducible clindamycin resistance among clinical isolates of staphylococci. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009;52(1):49.
56. Patel M, Waites KB, Moser SA, Cloud GA, Hoesley CJ. Prevalence of Inducible Clindamycin Resistance among Community- and Hospital-Associated *Staphylococcus aureus* Isolates. *J Clin Microbiol.* 1 de julio de 2006;44(7):2481-4.
57. Moore ZS, Jerris RC, Hilinski JA. High prevalence of inducible clindamycin resistance among *Staphylococcus aureus* isolates from patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* mayo de 2008;7(3):206-9.
58. Shouval DS, Samra Z, Shalit I, Livni G, Bilavsky E, Bilvasky E, et al. Inducible clindamycin resistance among methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infections in pediatric patients. *Isr Med Assoc J IMAJ.* octubre de 2011;13(10):605-8.
59. Hamilton-Miller JMT, Shah S. Patterns of phenotypic resistance to the macrolide-lincosamide-ketolide-streptogramin group of antibiotics in staphylococci. *J Antimicrob Chemother.* 1 de diciembre de 2000;46(6):941-9.
60. Moosavian M, Shoja S, Rostami S, Torabipour M, Farshadzadeh Z. Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* due to *erm* genes, Iran. *Iran J Microbiol.* diciembre de 2014;6(6):421-7.
61. Jenssen WD, Thakker-Varia S, Dubin DT, Weinstein MP. Prevalence of macrolides-lincosamides-streptogramin B resistance and *erm* gene classes among clinical strains of staphylococci and streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* junio de 1987;31(6):883-8.
62. Echevarria Zarate J, Iglesias Quilca D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Medica Hered.* octubre de 2003;14(4):195-203.
63. Untitled Document [Internet]. [citado 2 de abril de 2016]. Recuperado a partir de: <http://www.fihu-agnostico.org.pe/revista/numeros/2001/mayjun01/149-156.html>
64. Mamani E, Luján D, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*: Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *An Fac Med.* junio de 2006;67(2):120-4.

65. Contenido.pmd - a02v19n1.pdf [Internet]. [citado 2 de abril de 2016]. Recuperado a partir de: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v19n1/pdf/a02v19n1.pdf>
66. Microsoft Word - Informe resistencia 2007 v.2.doc - Informe_Resistencia_2007.pdf [Internet]. [citado 2 de abril de 2016]. Recuperado a partir de: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/Informe_Resistencia_2007.pdf
67. Ekrami A, Abbasi Montazeri E, Kaydani GA, Shokoohizadeh L. Methicillin Resistant Staphylococci: Prevalence and susceptibility patterns in a burn center in Ahvaz from 2013–2014. *Iran J Microbiol.* agosto de 2015;7(4):208-13.
68. Clindamycin treatment of methicillin-resistant Staphylococcus...: The Pediatric Infectious Disease Journal [Internet]. LWW. [citado 2 de marzo de 2016]. Recuperado a partir de: http://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2002/06000/Clindamycin_treatment_of_methicillin_resistant.10.aspx
69. Siberry GK, Tekle T, Carroll K, Dick J. Failure of Clindamycin Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Expressing Inducible Clindamycin Resistance In Vitro. *Clin Infect Dis.* 1 de noviembre de 2003;37(9):1257-60.
70. Kilic A, Li H, Stratton CW, Tang Y-W. Antimicrobial Susceptibility Patterns and Staphylococcal Cassette Chromosome mec Types of, as Well as Panton-Valentine Leukocidin Occurrence among, Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates from Children and Adults in Middle Tennessee. *J Clin Microbiol.* 1 de diciembre de 2006;44(12):4436-40.
71. INDICE - T34046.pdf [Internet]. [citado 5 de marzo de 2016]. Recuperado a partir de: <http://eprints.ucm.es/17148/1/T34046.pdf>
72. Mandell GL, Jhon E. Bennett, Raphael Dolin. Enfermedades infecciosas. Principios y Práctica. 7.^a ed. España: Elsevier; 2012.
73. Mansouri S, Sadeghi J. Inducible Clindamycin Resistance in Methicillin-Resistant and-Susceptible Staphylococcus aureus Isolated From South East of Iran. *Jundishapur J Microbiol* [Internet]. 1 de diciembre de 2014 [citado 10 de marzo de 2015];7(12). Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4335548/>

X. ANEXOS

- **Anexo N°1:** Ficha de recolección de datos.
- **Anexo N°2:** Esquema básico de aislamiento e identificación de *Staphylococcus*.
- **Anexo N°3:** Modelo de disposición de discos para el D-test y resistencia a la meticilina y criterios de interpretación de los halos de inhibición.

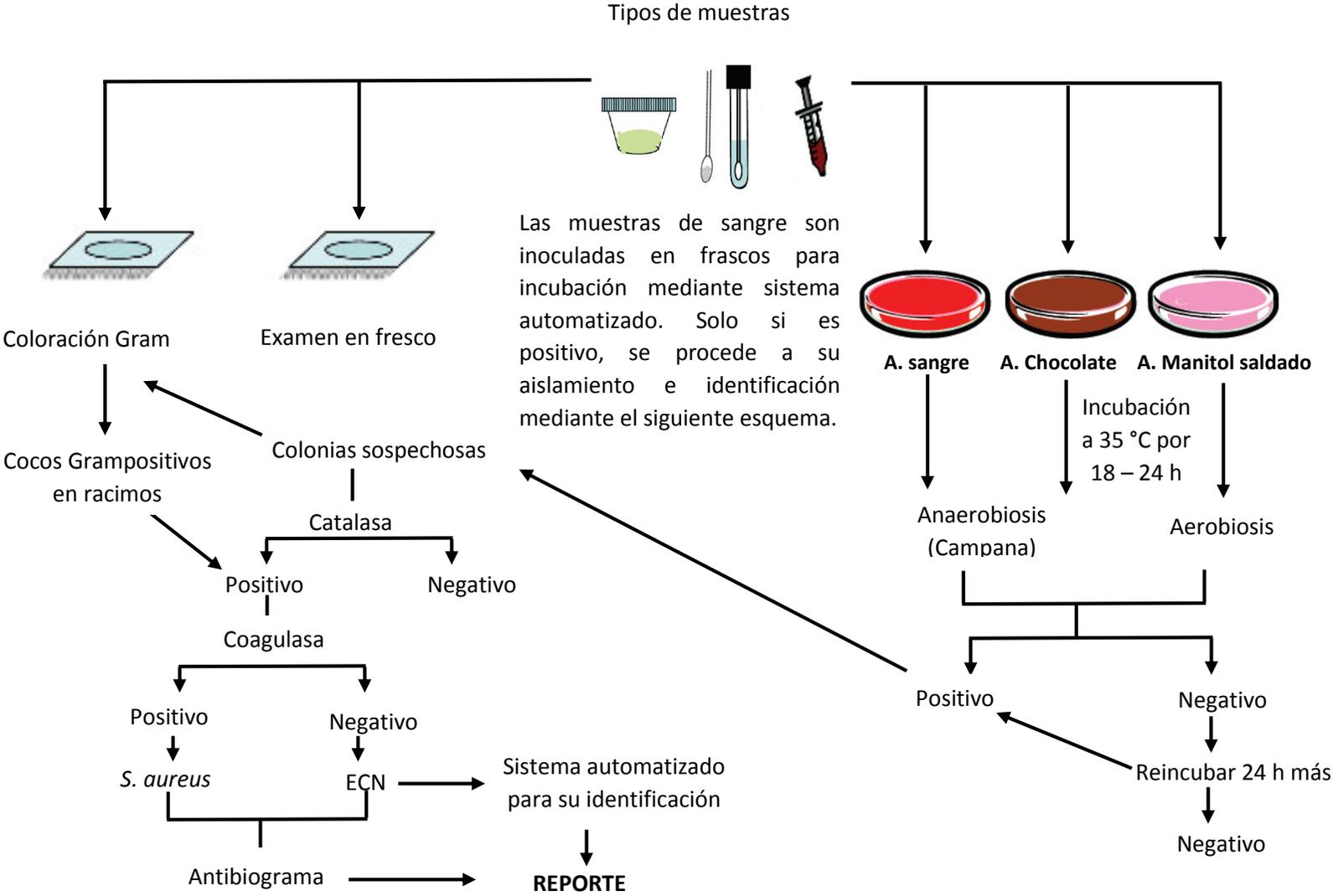
ANEXO N° 1
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	
RESISTENCIA INDUCIDA A CLINDAMICINA EN <i>Staphylococcus aureus</i> y ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVO EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO. 2015	
N° DE FICHA:	FECHA:
DATOS DEL PACIENTE	
CÓDIGO:	TIPO DE MUESTRA:
PROCEDENCIA:	
DATOS DEL AISLAMIENTO	
ESPECIE BACTERIANA:	
PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A LA METICILINA	
FOX:	
D-TEST	
RESULTADO:	FENOTIPO:

Código: número de muestra más fecha; **Tipo de muestra:** orina, vías respiratorias, sangre, piel, catéter, LCR, etc; **Procedencia:** hospitalizado o consulta externa; **perfil de susceptibilidad a la meticilina:** resistente (R) o sensible (S); **D-test (resultado):** positivo o negativo; **Fenotipo:** D, D+, N, HD, R, S.

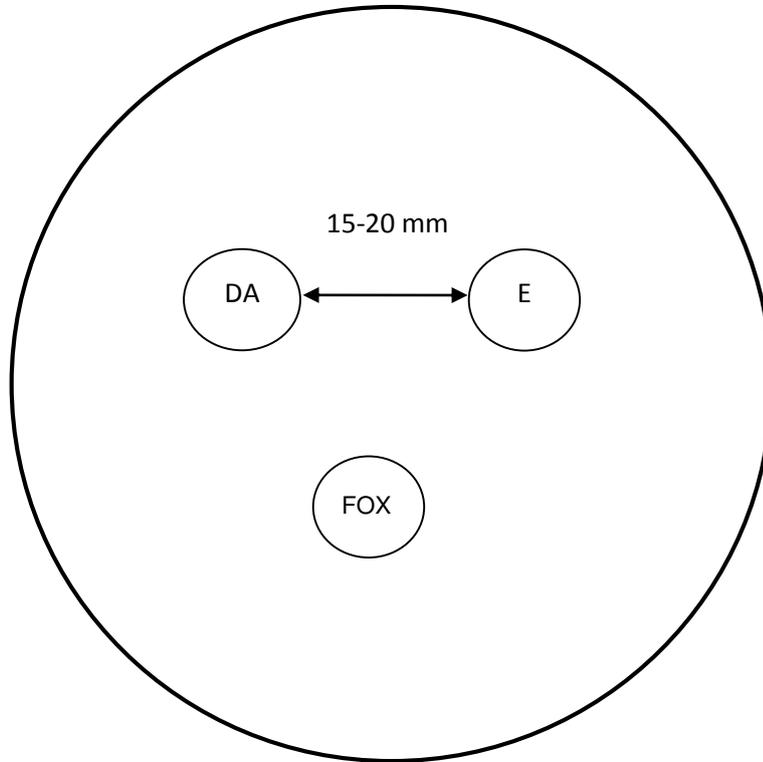
ANEXO N°2

Esquema básico de aislamiento e identificación de *Staphylococcus*



ANEXO N° 3

MODELO DE DISPOSICIÓN DE DISCOS PARA EL D-TEST Y RESISTENCIA A LA METICILINA



DA: clindamicina (2 µg)

E: eritromicina (15 µg)

FOX: cefoxitina (30 µg)

CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN PARA CLINDAMICINA, ERITROMICINA Y CEFOXITINA EN *S. aureus* Y ECN, SEGÚN EL CLSI M100 – S25

Especie bacteriana	Disco	Criterio de interpretación de los halos de inhibición (medido en mm)		
		Sensible	Intermedio	Resistente
<i>S. aureus</i> y ECN	Clindamicina	≥ 21	15 - 20	≤ 14
	Eritromicina	≥ 23	14 - 22	≤ 13
<i>S. aureus</i> y <i>S. lugdunensis</i>	Cefoxitina	≥ 22	-	≤ 21
ECN excepto <i>S. lugdunensis</i>	Cefoxitina	≥ 25	-	≤ 24