

Detección de portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en una unidad de alto riesgo neonatal

Detection of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant carriers in high risk neonatal unit

EVELYN ALVIÁREZ¹, ELSA VELAZCO¹, BEATRIZ NIEVES¹, GLADYS VIVAS¹,
BETTY GUTIERREZ².

Departamento de Microbiología y Parasitología. Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología Anaeróbica Roberto Gabaldón. Edificio Gonzalo González. Facultad de Farmacia y Boanálisis¹. Servicio de Neonatología I.A.H.U.L.A.² Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Recibido septiembre 2005 - Aceptado junio 2006

RESUMEN

En la actualidad, las infecciones nosocomiales siguen siendo un problema relevante en los hospitales a nivel mundial, debido al ingreso frecuente de pacientes susceptibles a las infecciones, a la aparición de microorganismos altamente resistentes a los agentes antimicrobianos y al aumento en la complejidad de las intervenciones quirúrgicas realizadas. *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (SARM) es un patógeno intrahospitalario importante; este microorganismo se ha logrado aislar en modernas unidades de cuidados intensivos, produciendo el 50% de cuadros de sepsis severa. Para la adecuada vigilancia y prevención de infecciones intrahospitalarias ocasionadas por cepas de SARM, se han sugerido diferentes medios de cultivo para la detección de SARM, entre ellos, el agar Manitol Salado suplementado con 6 µg/mL de oxacilina. En el presente estudio se utilizó este medio para detectar cepas SARM en el personal de salud de la Unidad de Alto Riesgo Neonatal (UARN), del IAHULA, donde el 31,58% de dicho personal resultó portador nasal de cepas SARM heterorresistentes. El mayor porcentaje de portadores estuvo representado por el personal de enfermería con un 58,33%. El 7,9% del personal muestreado presentó cepas SARM heterorresistentes en manos, encontrándose sólo en el personal de enfermería con un 15%. Se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a todas las cepas SARM, por los métodos de: difusión en disco o Kirby Bauer y dilución en agar. Además de la resistencia a la oxacilina el 52,9% de las cepas estudiadas mostró resistencia a la eritromicina y la kanamicina, y un 47% de resistencia a gentamicina.

Este estudio sugiere que las enfermeras siguen siendo fuente importante de diseminación de cepas SARM, por ello, es necesario continuar con las medidas de control como lavado de manos antes y después de la manipulación de pacientes.

PALABRAS CLAVE

Staphylococcus aureus Resistente a Meticilina, Nosocomial, Neonato, Portadores

ABSTRACT

At the present time, the nosocomials infections continue being a relevant problem in the hospitals around the world, had to the frequent entrance of susceptible patients to the infections generally, to the appearance of highly resistant microorganisms to the antimicrobial agents and the increase in the complexity of the surgical operations. Resistant Methicillin *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important intrahospitalable pathogen; this microorganism has been managed to isolate in modern units of intensive cares, producing 50% of cases of several sepsis. For the suitable monitoring and prevention of intrahospitalable infections caused by MRSA strains, different means from culture for the detection of MRSA have been suggested, among them, Mannitol Salt agar with 6 µg/mL of oxacillin. In the present study east means were used to detect stocks MRSA in the personnel of health of the Unit High Neonatal Risk (UHNR), of the IAHULA, where 31.58% of personal saying were carrying from heteroresistant strains SARM in nasal graves. The greater percentage of carriers was represented by the

personnel of nursery with a 58.33%. 7.9% of the studied personnel presented heteroresistant strains SARM in hands, being only in the personnel of nursery with a 15%. Tests of antimicrobial susceptibility to all strains SARM were made, by the methods of: disc diffusion or Kirby Bauer and dilution in agar. In addition to the resistance to the oxacillin 52.9% of the studied stocks showed to resistance the eritromicin and kanamicin, and a 47% of resistance to gentamicin. This study suggests nurses continue them being important source of dissemination of strains SARM, for that reason, it is necessary to continue before with the measures of control like washing of hands and after the manipulation of patients.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus se ha aislado en unidades de cuidados intensivos (UCI), produciendo el 50% de cuadros de sepsis severas. A finales de los años 90 la prevalencia de infecciones por SARM (*Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina) en UCI en Norteamérica ascendió a un 50%, al igual que en los hospitales españoles y europeos en general (Salgado, 2003; Domínguez y Pujol, 2001). Se ha definido SARM, como aquellas cepas resistentes a la meticilina, oxacilina y nafcilina, estas cepas también pueden ser resistentes a otros agentes antimicrobianos, como la clindamicina, y los aminoglucósidos. La aparición de la resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus* y la diseminación general de estas cepas por los hospitales en todo el mundo, conlleva a uno de los retos terapéuticos y de control de infección más importante en los últimos años. A partir de los años 90, los brotes de infección por SARM se han encontrado asociados a hospitales y han sido la consecuencia de la entrada y diseminación, por transmisión cruzada, de unos clones específicos (Velazco et al., 2002; Domínguez y Rodríguez, 2003). Mendivil et al. (2000) destacan que el microorganismo más frecuentemente aislado como productor de infección nosocomial en Neonatología, en hospitales del continente americano, es *Staphylococcus aureus*, seguido de bacilos gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa*. En Venezuela, cabe destacar que SARM, desde principios de los años 80 aparece como patógeno nosocomial importante asociado a infecciones de piel y tejidos blandos, en Unidades de Alto Riesgo Neonatal (UARN) y UCI. (Comegna et al., 2000). Por otra parte, Velazco et al. (2002) reportan un 20% de cepas SARM, aisladas en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal (UCIN) del IAHULA, Mérida, de neonatos que cursaban con alguna infección nosocomial, siendo la conjuntivitis y la sepsis neonatal las entidades clínicas más frecuentes

producidas por este tipo de microorganismo.

Se han descrito diversos mecanismos de resistencia a la meticilina en cepas de *S. aureus*, el más importante de ellos es la disminución de los niveles de resistencia de la bacteria, la cual, generalmente, es el resultado de la hiperproducción de beta- lactamasas (Fluit et al., 2001). Otro mecanismo es el que está asociado con el gen *mecA*. Este gen se encuentra integrado en el DNA cromosómico, en las denominadas actualmente islas de patogenicidad (Schmidt y Hensel, 2004). Además de la resistencia a la meticilina por cepas patógenas de *S. aureus*, de origen hospitalario, numerosos estudios de laboratorio han demostrado la resistencia extendida a los aminoglucósidos exhibidas por cepas SARM, demostrando por métodos de biología molecular, la presencia de plásmidos, que median los mecanismos de resistencia de este tipo de bacterias (Carrol et al., 1989; Lemaitre et al., 1998).

Jayaretne y Rutherford (1999) describieron un método para determinar la susceptibilidad a la meticilina, utilizando agar manitol salado suplementado con 6 µg/mL de oxacilina, este medio posee como ventaja, el aislamiento de cepas de SARM en un periodo de tiempo menor en relación a otras técnicas descritas previamente.

Conociendo la importancia que tiene SARM como patógeno nosocomial en pacientes neonatos, se estableció como objetivo general identificar el estado de portador de SARM en el personal de la UARN del IAHULA, así como también, identificar dentro de los grupos de portadores de SARM, su ubicación bien sea en fosas nasales ó en manos. Por otra parte, se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a las cepas aisladas ante diferentes agentes antimicrobianos por el método Kirby-Bauer y se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

MATERIALES Y MÉTODOS

a.- Población y Muestra:

Se estudiaron muestras provenientes de manos y fosas nasales del personal que labora en la UARN del IAHULA conformado por: 2 médicos especialistas, 4 médicos residentes de 3º año, 2 médicos residentes de 2º año, 1 médico residente de 1º año, 20 enfermeras, 4 estudiantes de medicina, 1 técnico en esterilización y 4 camareras. Dicha actividad se realizó en Julio del 2003, cuando el jefe de la unidad informó sobre un aumento en la frecuencia de infecciones por SARM en los neonatos recluidos en la misma.

b.- Recolección y Procesamiento de las Muestras:

Para la detección de portadores de SARM en el personal de salud, se procedió a la toma de muestra de fosas nasales y manos de acuerdo al procedimiento

descrito en Isemberg (1992). Utilizando un hisopo estéril humedecido con solución fisiológica estéril, se procedió a tomar muestra de cada una de las fosas nasales por separado, y se inoculó en agar manitol salado (Hi-Media) y en agar manitol salado suplementado con 6 µg/mL de oxacilina (Jayaretno y Rutherford, 1999).

Posteriormente se incubaron las placas a 35 °C durante 72 horas. La muestra de las manos se tomó de los dedos pulgar, índice y medio por el método de impronta en placas RODAC conteniendo agar manitol salado (Hi-Media) y agar manitol salado con 6µg/mL de oxacilina. Todas las placas se incubaron a 35 °C durante 72 horas (Marshall, 1992).

La identificación a nivel de género y especie de las cepas aisladas se realizó de acuerdo a lo descrito en Koneman et al. (1999).

Se realizaron dos métodos para medir la susceptibilidad antimicrobiana:

1.-Método de difusión en disco: A cada cepa de SARM se le determinó la susceptibilidad a los siguientes antimicrobianos: gentamicina 10 µg, eritromicina 15 µg, cloranfenicol 30 µg, tobramicina 10 µg, kanamicina 30µg, amikacina 30µg, vancomicina 30 µg, estreptomycin 10µg, trimetropin/sulfametoxazol 23,75 µg y 1,25 µg, clindamicina 2 µg y rifampicina 5 µg, mediante el método de difusión en disco Kirby-Bauer. Los antibióticos utilizados provenían de la casa comercial Difco. La susceptibilidad a la oxacilina se determinó utilizando el disco de oxacilina de 1 µg (Difco) y Agar Mueller-Hinton (Hi-Media) con 2% de cloruro de sodio. Las placas se incubaron a 35 °C entre 16 a 20 horas (Ferraro et al., 2003).

2.- Método de dilución en agar: La concentración inhibitoria mínima (CIM) de oxacilina, eritromicina, gentamicina, tobramicina, amikacina y kanamicina, ante las cepas de SARM, se determinó, según el procedimiento descrito por Ferraro et al. (2005). Las drogas utilizadas para el presente estudio fueron suministradas por Laboratorios Valmorca. Se empleó agar Müeller Hinton (Hi-Media) suplementado con 2% de cloruro de sodio para la CIM de oxacilina y agar Müeller Hinton (Hi-Media) sin suplemento para la CIM de aminoglucósidos y eritromicina.

RESULTADOS

De 38 personas que laboran en la UARN del I.A.H.U.L.A, en los turnos mañana, tarde y noche, el 39,47% (15/38), se detectaron como portadores de cepas SARM, utilizando el método de cribado con manitol salado suplementado con 6 µg/mL de oxacilina.

El 31,58% (12/38) del personal fue portador nasal de SARM y se observó la mayor frecuencia en el

personal de enfermería con un 58,33% (7/12), seguido de camareras con un 25% (3/12). El 7,9% del personal muestreado presentó cepas SARM en manos encontrándose sólo en el personal de enfermería 15% (3/20) respecto al total de enfermeras estudiadas.

En la tabla 1, se aprecia que el mayor porcentaje de portadores de SARM (en fosas nasales y manos) se encontró en las enfermeras representado por un 60%, seguido de las camareras y médicos con 20% cada uno de ellos respectivamente.

TABLA 1

Portadores Totales de SARM en fosas nasales y manos según la ocupación.

Ocupación	Nº	Portadores de SARM	%
Médicos	9	3	20
Enfermeras	20	9	60
Camareras	4	3	20
Estudiantes de Medicina	4	-	-
Técnico en Esterilización	1	-	-
Total	38	15	100

Al realizar el método de Kirby Bauer (Tabla 2), se determinó que el porcentaje de resistencia de las cepas SARM evaluadas, fue ante la eritromicina y kanamicina (52,9%), seguido de la gentamicina con un 47%.

TABLA 2

Porcentaje de resistencia de las cepas SARM ante 11 agentes antimicrobianos por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer)

Antibiótico	Nº de cepas	%
Gentamicina	8	47
Eritromicina	9	52,9
Kanamicina	9	52,9
Cloranfenicol	2	11,7
Tobramicina	5	29,4
Rifampicina	2	11,7
Trimetropin-Sulfametoxazol	2	11,7
Estreptomycin	1	5,8
Vancomicina	0	0
Clindamicina	0	0

Por otra parte de acuerdo a la susceptibilidad antimicrobiana, se logró establecer perfiles de resistencia (Tabla 3), a partir del método Kirby-Bauer, observándose que el mayor número de cepas SARM

se ubicaron en el perfil II (gentamicina^R eritromicina^R kanamicina^R) y perfil III (gentamicina^R eritromicina^R kanamicina^R tobramicina^R).

TABLA 3

Perfiles de Resistencia de cepas SARM aisladas en fosas nasales y manos del personal que labora en la UARN del IAHULA- Julio 2002 (Método de Kirby-Bauer)

Perfiles de resistencia	N° de cepas	% de Resistencia
oxacilina@eritromicina@	1	6,66
oxacilina@gentamicina@eritromicina@kanamicina@	3	20
oxacilina@gentamicina@eritromicina@kanamicina@ tobramicina@	3	20
oxacilina@gentamicina@eritromicina@kanamicina@ cloranfenicol@tobramicina@rifampicina@trimetropin-sulfa@	1	6,66
oxacilina@gentamicina@kanamicina@ tobramicina@rifampicina@trimetropin-sulfa@	1	6,66
oxacilina@eritromicina@kanamicina@	1	6,66
oxacilina@kanamicina@	1	6,66
oxacilina@	4	26,66
Total de cepas evaluadas	15	100

El 100% de las cepas SARM mostraron altos niveles de resistencia a la oxacilina (CIM90=128 µg/mL) (Tabla 4). El 46,6% de estas cepas, mostraron además elevados niveles de resistencia a los macrólidos (CIM90 64 µg/mL de eritromicina). Así mismo, estas cepas presentaron resistencia a los aminoglucósidos, donde se encontró que el 66,6% (CIM90 256 µg/mL) y 33,3% (CIM90 128 µg/mL) de las cepas estudiadas mostraron resistencia a la gentamicina y amikacina respectivamente; ubicándose en este grupo cepas SARM tanto de portadores nasales como de manos.

TABLA 4

Concentraciones Inhibitorias Mínimas (CIM) de cepas SARM

Antibiótico	CIM50 (ug/mL)	CIM90 (ug/mL)	% de Resistencia
Oxacilina	-	128	100
Eritromicina	1	64	46,6
Gentamicina	16	256	66,6
Tobramicina	32	64	60,0
Kanamicina	12	=400	53,3
Amikacina	16	128	33,3
Estreptomina	8	=256	80,0

Oxacilina : R=4ug/mL, S= 2ug/mL
 Eritromicina: R=8ug/mL, S= 0,5 ug/mL
 Gentamicina: R=8ug/mL, S= 2 ug/mL
 Tobramicina: R=8 ug/mL, S= 4 ug/mL
 Kanamicina: R=25 ug/mL, S=6 ug/mL
 Amikacina: R=32 ug/mL, S= 16ug/mL
 Estreptomina: R=, S=

DISCUSIÓN.

Las infecciones nosocomiales representan un desafío creciente en las Unidades de Neonatología, una problemática siempre presente que lejos de encontrar solución se hace cada vez mas compleja (Mendivil et al., 2000). La infección nosocomial en el neonato puede ser producida por organismos de origen endógeno (flora normal) o exógeno, cuando se transmite a través de objetos animados e inanimados dentro del ambiente intrahospitalario (Urbina, 2001).

Staphylococcus aureus es un patógeno notablemente versátil, capaz de producir una variedad mucho más amplia de infecciones que la mayoría de las bacterias (Junco et al., 2000). En Venezuela, desde principios de los años 80, cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina/meticilina, se han visto relacionadas a la producción de diferentes infecciones de origen nosocomial, tales como las infecciones de piel y tejidos blandos, principalmente, en áreas de cuidados intensivos. Esta clase de cepas también se han aislado tanto en fosas nasales como en las manos, en el personal que labora en las áreas hospitalarias (Comegna et al., 2000).

Mendoza et al. (2001) reportan un 44,4% (8/18) de portadores de SARM en el personal que labora en un área de Neonatología, encontrando un 70% de portadores nasales. Resultados similares se pudieron encontrar en este trabajo en el cual, 31,58% del personal era portador nasal de SARM (12/38). Sin embargo, el porcentaje es elevado en comparación al encontrado en el año 2002 por Velazco et al., quienes reportaron que el 22% del personal que prestaba servicio en la UARN del IAHULA, era portador de cepas SARM en fosas nasales.

Hernández et al., en el 2003 realizan una investigación para detectar cepas SARM en fosas nasales de niños cubanos, encontrando que el 0,35% de los niños sanos y el 2% de los niños hospitalizados eran portadores nasales de cepas SARM, utilizando el medio OMSA (Oxacilina Manitol Sal Agar) para detección de SARM valores inferiores comparados con este estudio, además, estudiando los índices de resistencia por el método de difusión en disco Kirby Bauer, las cepas aisladas en ambos grupo de estudio también mostraron niveles de resistencia superiores a antibióticos tales como penicilina y eritromicina. Por otra parte en el 2001, Sanabria et al., estudiaron al personal hospitalario de diferentes centros asistenciales, buscando portadores nasales de cepas de *S. aureus*, obteniendo que el 21% (9/43) de las

mencionada cepas resultaron resistentes a meticilina, el 28% (12/43) resistentes a gentamicina, por Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

La vía más frecuente de transmisión de SARM, son las manos del personal, y por lo general, las cepas son introducidas en el ambiente intrahospitalario cuando ingresa un paciente infectado o colonizado, quien actúa como reservorio. También puede ocurrir que un trabajador de la salud se colonice a sí mismo al tocarse la nariz, sin haberse efectuado un apropiado lavado de manos u omitido el uso de barreras, luego del contacto con un paciente colonizado por SARM (Domínguez y Pujol, 2001). En esta investigación también se detectaron cepas de SARM en manos, en un porcentaje menor 7,9% (3/38); aunque es poco el porcentaje de cepas aisladas en manos, se le debe dar importancia ya que esto sirve como fuente segura de diseminación dentro del área hospitalaria estudiada en la presente investigación aunado al hecho de que estas cepas son multirresistentes.

En el servicio de Microbiología de la Universidad de Monash en Australia, cepas de *S. aureus*, procedentes de diferentes muestras clínicas, han exhibido resistencia a los aminoglucósidos, representado por el patrón gentamicina, tobramicina y kanamicina, resultado similar al encontrado en esta investigación cuando se realizaron los perfiles de resistencia por el método de Kirby-Bauer, confirmado luego por la CIM, mediante el cual el 20% de las cepas presentaron un patrón de resistencia similar. Esta resistencia se ha asociado con la presencia del transposon *Tn4001*, el cual está compuesto por 2 copias invertidas de secuencias de inserción de 1,3 Kb, y pertenecen al grupo pSK1 de plásmidos multirresistentes; además estos plásmidos median la resistencia a desinfectantes como el amonio cuaternario y el bromuro de etidio (Byrne et al., 1990). Ida et al. (2001), al realizar CIM para aminoglucósidos en cepas SARM, provenientes de diferentes hospitales de Japón, observaron en 61,67% (235/381) de los aislados, valores de CIM superiores a 8 µg/mL para gentamicina y para tobramicina niveles elevados superiores a 128 µg/mL, resultados que se asemejan con los obtenidos en este estudio donde las cepas SARM aisladas obtuvieron un 66,6% de resistencia para la gentamicina expresada en la CIM90 igual a 256 µg/mL y para tobramicina un 60% de resistencia las cepas SARM, con un valor de la CIM90 igual a 64 µg/mL.

En el año de 1999, Jayaratne y Rutherford realizaron un barrido para determinar cepas SARM en pacientes hospitalizados, utilizando como medio principal agar manitol salado suplementado con 6 µg/mL de oxacilina, encontrando que el 38,6% de cepas desarrolladas en

este medio, presentaban los genes *mecA* y *nuc* relacionadas con la resistencia a la meticilina identificados por PCR. En este estudio, a las cepas aisladas en el medio manitol salado con 6 µg/ml oxacilina, se les realizó CIM ante oxacilina, encontrando que el 100% (CIM90 128 µg/mL) eran realmente cepas SARM, los autores anteriormente señalados sugieren, que cuando se realiza un barrido para la búsqueda de este tipo de cepas, utilizando este medio de cultivo, es necesario que éste sea respaldado por estudios de antibiología y biología molecular (PCR).

El principal reservorio de SARM, es el personal de salud que labora en cualquier institución hospitalaria. *Staphylococcus aureus* multirresistente representa un gran problema para el control de las infecciones causadas por este microorganismo, especialmente en unidades de alto riesgo, tal como lo es la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del I.A.H.U.L.A., donde se encontraron portadores de dicho microorganismo. Se recomienda mantener una adecuada vigilancia y control para así, evitar brotes en la mencionada área.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todo el personal de salud que labora en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del I.A.H.U.L.A por su colaboración en la realización del presente estudio. Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de estudios de Postgrado de la Universidad de Los Andes, CDCHT FA-283-02-07-B y FONACIT N° F- 2000001633.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Byrne, M., Gillespie, M. y Skurray, R. 1990. *Molecular analysis of a gentamicin resistance transposonlike element on plasmids isolate from North American Staphylococcus aureus strains*. Ant.Ag.Chem. Vol. 34(11): 2106-2113.
- Carrol, J.D., Pomeroy, H., Russel, R., Arbuthnott, J., Keane, C., McCormick, O. y Coleman, D. 1989. *A new methicillin an gentamicin resistant Staphylococcus aureus in Dublin: molecular genetic analysis*. J. Med. Microbiol. Vol. 28:15-23.
- Comegna, M., Guzmán, M., Carmona, O. y Molina, M. 2000. *Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela*. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. Vol. 20(1): 58-66
- Domínguez, M. y Pujol, R. 2001. *Cambios en la epidemiología de Staphylococcus aureus resistente a meticilina. Recomendaciones para el control de su diseminación*. Disponible en www.seimc.org/control/revi_Bacte/Marsactrl.htm.

Domínguez, M. y Rodríguez, J. 2003. *Proyecto de Estudio Staphylococcus aureus Resistente a Meticilina en España* (Protocolo GEIH Gemara SARM 2003). Disponible en: www.seimc.org/geih/doc5.htm.

Ferraro, M., Wikler, M., Craig, W., Dudley, N., Eliopoulos, G., Hecht, D., Hindler, J., Reller, L., Sheldon, A., Swenson, J., Tenover, F., Testa, R. y Weinstein, M. 2003. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test*. Proved Standard- Eight Edition. NCCLS. Vol. 23 (1).

Ferraro, M., Wikler, M., Craig, W., Dudley, N., Eliopoulos, G., Hecht, D., Hindler, J., Reller, L., Sheldon, A., Swenson, J., Tenover, F., Testa, R. y Weinstein, M. 2005. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test*. Fifteenth informational supplement. NCCLS. Vol. 25 (1).

Fluit, A., Maarten, R., Visser, A. y Schmitz, F. 2001. *Molecular Detection of Antimicrobial Resistance*. Clin. Microbiol. Rev. Vol. 14: 836-871.

Hernández, I., Toriño, G., González, M. y González, I. 2003. *Staphylococcus aureus Resistente a la Meticilina: detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad*. Rev. Cubana. Med Trop. Vol. 55(3):153-161.

Ida, T., Okamoto, R., Shimauchi, C., Okubo, T., Kuga, A. y Inoue, M. 2001. *Identification of Aminoglycoside-Modifying Enzymes by Susceptibility Testing: Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Japan*. J. Clin. Microbiol. Vol. 39(9): 3115-3121.

Isemberg H. 1992. editor. *Clinical Microbiology Procedure Handbook*. Washington: American Society for Microbiology.

Jayarene, P y Rutherford, C. 1999. *Detection of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from growth on mannitol salt oxacilin agar using PCR for nosocomial surveillance*. Diag. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 52(1):13-18.

Junco, R., Marrero, M y Lara, C. 2000. *Staphylococcus e Infección Nosocomial*. Rev. Cubana. Hig. Epidemiol. Vol. 38(1): 24-28.

Koneman, E., Hallen, S., Dowell, V., Jand, W., Sommens, H. y Winn, W. (eds). 1999. *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Médica Panamericana. México. P.412-421.

Lemaitre, N., Sougakoff, W., Masmoudi, A., Fieve, M., Bismuth, R. y Jarlier, V. 1998. *Characterization of gentamicin-susceptible strains of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus involved in nosocomial spread*. J. Clin. Microbiol. Vol. 36: 81-85.

Marshall, R. 1992. *Standard methods for the examination of dairy products*. Am Pub Health Assoc (APHA) P. 402-407.

Mendivil, C., Engüis, J., Polo, P., Ollanquidi, P., Ruin, M. y Del-Real, C. 2000. *Infección Nosocomial y Control de la Infección en Neonatología. Suplemento de Neonatología*. Disponible en: www.cfnavarra.es/salud/anales/texto/vol23/suple2/.

Mendoza, C., Ballón, J., De los Rios, J. y Velásquez, R. 2001. *Staphylococcus aureus Meticilino Resistente (MRSA): Colonización y susceptibilidad en pacientes y personal de salud en un hospital de referencia*. Diag. Vol. 40(3): 149-156

Salgado, C., Calfee, P. y Farr, B. 2003. *Interventions to prevent Methicillin Resistant Staphylococcus aureus transmission in health care facilities: What Works?*. Clin. Microbiol. News. Vol. 25(18): 137-144.

Sanabria, R., Laspina, F., Balmaceda, R., Samudio, M., Fariña, N., Campuzano, A., Acosta, A. y Ortiz, G. 2001. *Portación nasal de Staphylococcus aureus en personal hospitalario, frecuencia y patrón de susceptibilidad*. Disponible en: <http://www.una.py/>.

Schmidt, H. y Hensel, M. 2004. *Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis*. Clin. Microbiol. Rev. Vol. 17: 14-56

Urbina, H. 2001. *Infección Nosocomial*. Arch. Venez. Puericul. Ped. Vol. 64:114-120.

Velazco, E., Nieves, B., Araque, M., Torres, A. y Calderas, Z. 2002 *Epidemiología de infecciones Nosocomiales por Staphylococcus aureus en una unidad de Alto Riesgo Neonatal*. Enf. Infecc. Microbiol. Clin. Vol. 20: 321-325.