

Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal

Elsa Velazco, Beatriz Nieves, María Araque y Zoila Calderas

Laboratorio de Investigación en Bacteriología Roberto Gabaldón. Departamento de Microbiología y Parasitología. Edificio Gonzalo González. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Las infecciones nosocomiales son una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. En los países en vías de desarrollo es difícil llevar a cabo un programa eficaz de vigilancia y control de este tipo de infecciones debido al coste que implica, tanto en insumos humanos como en otros suministros. De ahí nuestro interés en realizar un estudio prospectivo para determinar las características epidemiológicas y microbiológicas de las infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) de noviembre de 1997 a octubre de 1998. Durante el período estudiado, se aislaron 24 (20%) cepas de *S. aureus* de un total de 120 microorganismos. *S. aureus* se recuperó en el 47 y 33% de la sangre y la conjuntiva, respectivamente. En las conjuntivitis se aisló *S. aureus* en el 42% como patógeno único. De las 24 cepas de *S. aureus*, 20 (83%) fueron resistentes a la meticilina. De acuerdo con su perfil de resistencia se establecieron 12 grupos en las cepas provenientes de neonatos con infección nosocomial y 1 grupo en las cepas provenientes de los dos portadores (barrido microbiológico), siendo Me^RGm^R el patrón más frecuente. El análisis plasmídico reveló 2 perfiles, cada uno con un plásmido de peso molecular mayor a 23.130 pb. Tanto las cepas de SARM aisladas de neonatos con infección nosocomial como las cepas aisladas del personal de salud portador de este microorganismo mostraron el mismo perfil plasmídico, lo cual sugiere que dicho personal pudo haber actuado como reservorio de las cepas de SARM aisladas de los neonatos con infección nosocomial.

Palabras clave: Epidemiología. *Staphylococcus aureus*. Nosocomial. Neonato. Análisis plasmídico.

Epidemiology of *Staphylococcus aureus* nosocomial infections in a high-risk neonatal unit

Nosocomial infections are a significant cause of morbidity and mortality throughout the world. In developing countries it is difficult to carry out effective surveillance and control programs for this type of infection because of the cost in both human and material resources. These considerations prompted us to perform a prospective study to determine the epidemiologic and microbiologic characteristics of nosocomial infections due to *Staphylococcus aureus* in the High-risk Neonatal Unit (HRNU) of the Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), during the period of November 1997 to October 1998. Among a total of 120 microorganisms, 24 (20%) strains of *Staphylococcus aureus* were isolated; 47% were recovered from blood and 33% from conjunctive samples. Among the cases of conjunctivitis, *S. aureus* was the only pathogen isolated in 42%. Twenty of the 24 *Staphylococcus aureus* strains (83%) were methicillin-resistant (MRSA). According to their resistance profiles, we established 12 groups of strains from neonates with nosocomial infections and 1 group of strains from the two carriers among the healthcare personnel detected by microbiological screening. The Me^RGm^R pattern was the most frequent. Plasmid analysis disclosed two profiles, each having a plasmid molecular weight over 23.130 bp. The MRSA strains isolated from the neonates and those isolated from the carriers showed the same plasmid profile. This suggests that the healthcare personnel may have acted as reservoirs of the MRSA strains found in neonates with nosocomial infection.

Key words: Epidemiology. *Staphylococcus aureus*. Nosocomial. Neonate. Plasmid analysis.

Introducción

En la actualidad, *Staphylococcus aureus* y el grupo de *Staphylococcus coagulasa negativa* son agentes etiológicos importantes de infecciones hospitalarias¹⁻⁵. *S. aureus* es frecuente en áreas quirúrgicas, de cuidado crítico, así como en áreas pediátricas, siendo las sepsis los procesos más frecuentemente involucrados⁶⁻⁸. Así mismo, se

Correspondencia: Dra. E. Velazco.
Sector Campo de Oro. Avda. 16 de Septiembre.
Mérida-Estado Mérida. Venezuela.
Correo electrónico: evelazco@ula.ve

Trabajo financiado por el Proyecto CDCHT AA-192-96.
Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Manuscrito recibido el 29-08-2001; aceptado el 8-05-2002.

encuentra como agente etiológico de onfalitis, conjuntivitis, en estas últimas acompañados de otros microorganismos⁹. La población pediátrica es uno de los grupos más predispuestos a desarrollar infecciones nosocomiales por *S. aureus*. De dicha población, los neonatos representan el grupo más frágil, debido a la condición de inmunosupresión y a los procedimientos médicos a los cuales es sometido en las unidades de cuidado especial¹⁰⁻¹³. El tratamiento antimicrobiano de infecciones por *S. aureus* está determinado por su resistencia a la meticilina, lo cual ha marcado la pauta en el diseño de estrategias específicas para el manejo terapéutico de infecciones nosocomiales ocasionadas por este tipo de microorganismo¹². Basándose en lo anteriormente expuesto, en la presente investigación se decidieron determinar las características epidemiológicas y microbiológicas de las infecciones nosocomiales por *S. aureus* en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal (UARN) del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) durante el período comprendido entre noviembre de 1997 y octubre de 1998.

Materiales y métodos

Población

Se estudiaron 523 muestras provenientes de pacientes pediátricos recluidos en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del IAHULA, con diagnóstico clínico de infección nosocomial, de acuerdo con los criterios establecidos por el Center for Diseases Control¹⁴.

Estudio microbiológico

Aislamiento de *S. aureus* de muestras provenientes de neonatos con infección nosocomial

El aislamiento de *S. aureus* de especímenes clínicos diversos se realizó siguiendo los procedimientos microbiológicos establecidos por Koneman et al¹⁵.

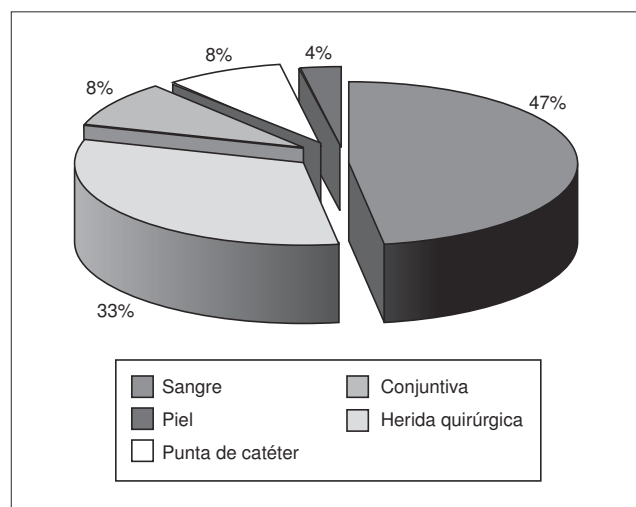


Figura 1. Localización de las infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes recluidos en la unidad de alto riesgo neonatal (UARN).

Determinación del estado de portador de *S. aureus* en el personal sanitario

Para la detección de portadores de *S. aureus* en el personal sanitario (11 en total), se procedió a la toma de muestra de fosas nasales y manos, de acuerdo con los criterios establecidos por el *Clinical Microbiology Procedure Handbook*¹⁶ y Marshal¹⁷. Dicha actividad se realizó el 11 de junio de 1998 cuando se detectó un aumento en la frecuencia de aislamiento de este microorganismo.

1. *Fosas nasales*. Se tomaron muestras por separado en cada fosa nasal con un hisopo estéril previamente humedecido con solución salina fisiológica estéril, y se sembró en agar manitol salado (DIFCO), incubándose a 37 °C durante 72 h.

2. *Manos*. Se utilizó el método de impronta de acuerdo con lo descrito por Marshal¹⁷, en placas RODAC conteniendo DIFCO. A cada miembro del personal de salud se le tomaron muestras de las yemas de los dedos pulgar, índice y medio. Las placas se incubaron a 37 °C durante 72 h.

Identificación

La identificación a nivel de género y especie de las cepas aisladas se realizó según lo descrito en *Clinical Microbiology Procedure Handbook*¹⁶, por Kloss y Lambe¹⁸ y por Koneman et al¹⁵.

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

1. *Método de difusión en disco*. A cada cepa de *S. aureus* se le determinó la susceptibilidad ante los siguientes agentes antimicrobianos: gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), rifampicina (5 µg), fleroxacin (5 µg) y tetraciclina (30 µg), mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) según el procedimiento descrito por el Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar¹⁹. La susceptibilidad antimicrobiana a la oxacilina se determinó utilizando el disco de oxacilina de 1 µg y agar Mueller-Hinton (DIFCO) con 2% de cloruro de sodio. Las placas se incubaron a 30 °C durante 48 h.

2. *Método de dilución en agar*. Las cepas de *S. aureus* resistentes a la oxacilina y gentamicina se les realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana cuantitativas por la técnica de concentración inhibitoria mínima (CIM) según el procedimiento descrito por el Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar¹⁹. Se utilizaron fármacos puros de oxacilina (Laboratorios Valmorca) y gentamicina (SIGMA). Para el ensayo de oxacilina se le agregó al agar Mueller-Hinton, 2% de cloruro de sodio. La cepa se consideró resistente a oxacilina y gentamicina cuando se observó un desarrollo bacteriano a una concentración igual o mayor a 4 y 8 µg/ml, respectivamente.

3. *Detección de la hiperproducción de betalactamasa*. En las cepas de *S. aureus* resistentes a la oxacilina se determinó la hiperproducción de de betalactamasa mediante la evaluación de la sensibilidad al disco de amoxicilina con ácido clavulánico (20/10 µg) por el método de Kirby-Bauer, de acuerdo con el procedimiento descrito en el *Clinical Microbiology Procedure Handbook*¹⁶. La prueba se consideró positiva cuando la cepa mostró un halo de inhibición mayor o igual a 19 mm para este antibiótico.

Las cepas controles que se utilizaron para las pruebas de susceptibilidad antimicrobianas fueron: *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) y *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) del Instituto Pasteur (BioMérieux) y *S. aureus* ATCC 25923.

Estudio plasmídico

El análisis plasmídico se llevó a cabo por el método de lisis alcalina²⁰, en cepas de SARM resistentes a gentamicina, seleccionadas de acuerdo con los valores de la CIM, incluyéndose una cepa aislada en enero de 1999 para verificar la posible circulación de una misma cepa en la mencionada área de estudio.

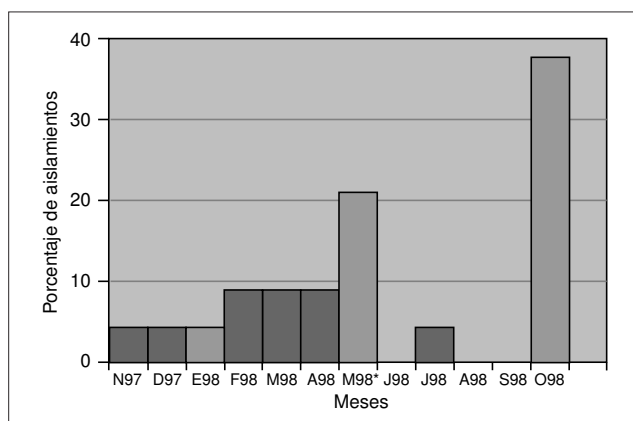


Figura 2. Distribución mensual de aislamientos de *Staphylococcus aureus* en la unidad de alto riesgo neonatal (UARN).

*Búsqueda de portadores de SARM en el personal de salud.

Resultados

Durante el período estudiado, se aislaron 24 (20%) cepas de *S. aureus* de un total de 120 microorganismos involucrados en las infecciones nosocomiales de la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del IAHULA. En la figura 1, puede apreciarse la frecuencia de aislamiento de este microorganismo a partir de diversos tipos de infecciones, recuperándose en mayor porcentaje de sangre (11/24) y conjuntiva (8/24), con el 47 y 33%, respectivamente. Se observó mayor frecuencia de aislamiento en los meses de mayo (21%) y octubre (39%) de 1998 (fig. 2). En las conjuntivitis, *S. aureus* se aisló en el 42% como patógeno único. De las 24 cepas de *S. aureus* aisladas, 20 (83%) fueron resistentes a la meticilina.

En el personal de salud (11 en total) que se encontraba trabajando en el momento del barrido microbiológico, se detectaron 2 portadores de SARM (22%), representados por una médico residente de pediatría y una estudiante de enfermería.

Al agrupar las cepas de *S. aureus*, de acuerdo con su perfil de resistencia, se establecieron 12 grupos en las cepas provenientes de neonatos con infección nosocomial y un grupo en las cepas provenientes de los 2 portadores detectados en el barrido microbiológico (tabla 1). Once cepas (46%) de SARM aisladas de neonatos también fueron resistentes a la gentamicina. Por otra parte,

TABLA 1. Perfil de resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de recién nacidos con infección nosocomial y personal de salud portador de dicho microorganismo (método Kirby-Bauer)

Perfil de resistencia antimicrobiana	Número de cepas resistentes
Recién nacidos	
Oxacilina ^R	3
Oxacilina ^R , gentamicina ^R	5
Oxacilina ^R , gentamicina ^R , eritromicina ^R	1
Oxacilina ^R , gentamicina ^R , clindamicina ^R , tetraciclina ^R	1
Oxacilina ^R , gentamicina ^R , tetraciclina ^R	3
Oxacilina ^R , gentamicina ^R , eritromicina ^R , tetraciclina ^R	1
Oxacilina ^R , eritromicina ^R	1
Oxacilina ^R , eritromicina ^R , tetraciclina ^R	2
Oxacilina ^R , eritromicina ^R , clindamicina ^R	1
Oxacilina ^R , tetraciclina ^R	2
Eritromicina ^R	1
Tetraciclina ^R	3
Personal de salud	
Oxacilina ^R , gentamicina ^R	2

^RResistente.

TABLA 2. Concentración inhibitoria mínima de oxacilina y gentamicina frente a cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de recién nacidos con infección nosocomial y personal de salud portador de dicho microorganismo

Antibiótico (μg/ml)	Número de cepas resistentes
Oxacilina*	
8	1
16	3
> 32	18**
Gentamicina***	
8	9
> 16	4**

*Rango de oxacilina: 0,5-32 μg/ml.

**Dos cepas pertenecen a portadores de *S. aureus* (personal de salud).

***Rango de gentamicina: 1-16 μg/ml.

5 cepas (21%) de *S. aureus* aisladas de recién nacidos con infección nosocomial y las 2 cepas (100%) aisladas de los portadores presentaron el patrón MeRGmR. Nueve cepas (38%) de *S. aureus* aisladas de neonatos con infección nosocomial fueron multirresistentes.

TABLA 3. Características fenotípicas de las cepas de *Staphylococcus aureus* seleccionadas para el análisis plasmídico

Cepas	Fecha de aislamiento	Muestra	CIM (μg/ml)		Perfil de resistencia	Hiperproducción de betalactamasa
			Oxacilina	Gentamicina		
071	16-01-98	Sangre	> 32	> 16	Oxacilina ^R , gentamicina ^R , tetraciclina ^R	Positivo
446	02-10-98	Secreción conjuntival	> 32	> 16	Oxacilina ^R , gentamicina ^R	Positivo
509.1	16-10-98	Secreción conjuntival	> 32	8	Oxacilina ^R , gentamicina ^R , eritromicina ^R	Positivo
526 B	21-10-98	Sangre	> 32	8	Oxacilina ^R , gentamicina ^R , eritromicina ^R , tetraciclina ^R	Positivo
P1	11-06-98	Manos	> 32	> 16	Oxacilina ^R , gentamicina ^R	Positivo
P11	11-06-98	Manos	> 32	> 16	Oxacilina ^R , gentamicina ^R	Positivo

^RResistente.

071, 446, 509.1 y 526B: cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes con infección nosocomial neonatal.

P1 y P11: cepas de *S. aureus* provenientes del personal de salud.

CIM: concentración inhibitoria mínima.

En la tabla 2 se aprecian los altos niveles de resistencia que mostraron las cepas de *S. aureus* a la meticilina y gentamicina. En la tabla 3, se muestran las características fenotípicas de las 6 cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina y gentamicina seleccionadas para el análisis plasmídico. Todas las cepas seleccionadas mostraron valores para la CIM mayores de 32 y 16 µg/ml para la meticilina y gentamicina, respectivamente; a excepción de las cepas 509.1 y 526B. Además de la resistencia a la meticilina y gentamicina, algunas cepas también fueron resistentes a la tetraciclina y/o eritromicina. Las 6 cepas fueron hiperproductoras de betalactamasa. El análisis plasmídico reveló 2 perfiles, cada uno con un plásmido de un peso molecular mayor a 23,130 pb (fig. 3). Las cepas 446, 509.1, 526B, 548.1 y P1 presentaron el perfil A. Las cepas 071 y P11 mostraron el perfil B.

Discusión

Las infecciones nosocomiales continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en las unidades de cuidados intensivos^{11,21-23}. La infección por SARM en recién nacidos es un problema particularmente serio. Ello puede deberse, en principio, a la condición de inmunosupresión del recién nacido, aunado a los procedimientos médicos invasivos a los cuales es sometido en las diversas unidades de cuidado especial¹⁰⁻¹³. Como se evidencia en nuestro trabajo, cepas de SARM se aislaron con elevada frecuencia de neonatos con infección de origen nosocomial, principalmente de casos de sepsis y conjuntivitis. Estas infecciones se presentaron con mayor frecuencia en los meses de mayo y octubre de 1998, lo cual pudo estar motivado por varios factores, entre ellos, la rotación periódica del personal médico residente de pediatría y los estudiantes de enfermería, así como a la insuficiente práctica de lavado de manos debido a los problemas de suministro de agua que sufre la institución hospitalaria. SARM en muchas UCI es ya endémico y en determinados hospitales, más del 50% de las bacteriemias

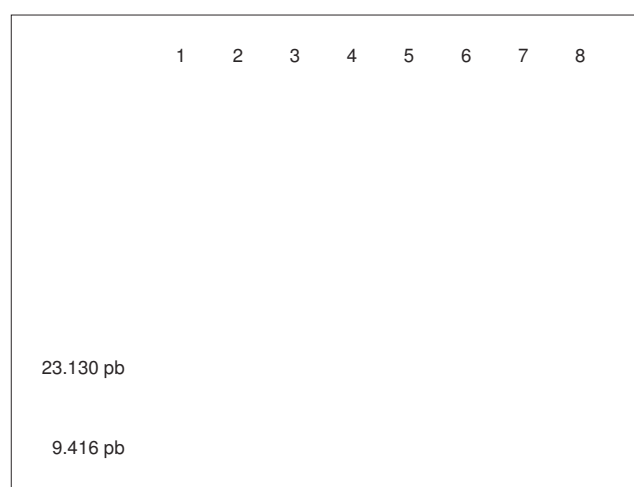


Figura 3. Perfil plasmídico de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a gentamicina, provenientes de neonatos con infección nosocomial y personal de salud portador de dicho microorganismo. 1, fago lambda Hind III; 2, 071; 3, 446; 4, 509.1; 5, 526B; 6, 548.1; 7, P1; 8, P11.

por este organismo ocurren en las mencionadas áreas críticas de hospitalización^{7,8,24}. En este estudio pudo demostrarse que el 38% de las cepas de *S. aureus* fueron multirresistentes con respecto a algunos de los antibióticos ensayados (meticilina, gentamicina, eritromicina, clindamicina y tetraciclina), hallazgos similares a los observados por otros investigadores^{4,12,25-27}. En el presente trabajo el marcador de resistencia predominante en las cepas de SARM fue la resistencia a la gentamicina, resultado que se comparte con otros publicados previamente^{1,26}. Llama la atención en este estudio la elevada frecuencia de conjuntivitis en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del IAHULA ocasionada por cepas de SARM, especialmente por su predominio como patógeno único en este tipo de infecciones. Este hallazgo difiere de lo observado por otros autores⁹, quienes señalan como característica predominante la presencia de cultivos polimicrobianos en este tipo de infección. Los brotes por SARM, comienzan usualmente con la transferencia o admisión de un paciente o miembro del personal infectado y/o colonizado de otro hospital o de la comunidad. Así mismo, pacientes de larga estancia con enfermedad crónica pueden actuar como reservorio de estas cepas. Este microorganismo puede persistir por la carencia de interés, así como de insumos humanos y suministros, que permitan ejecutar las acciones específicas en el marco de la vigilancia y control de SARM^{24,28-30}. Las cepas de SARM pueden diseminarse entre los pacientes más enfermos por distintas vías de transmisión. En un intento de determinar la fuente de origen de las cepas de SARM, tras el pico de frecuencia en el mes de mayo, se realizó un estudio microbiológico puntual en el mes de junio de 1998, en el personal de salud que se encontraba de turno en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del IAHULA. De este personal se tomaron muestras de las fosas nasales y de las manos, aislándose cepas de SARM en el 22%, de las cuales el 11% provenían del personal médico residente de pediatría que en ese período se encontraba rotando por la mencionada área de hospitalización. La colonización de las manos con SARM es importante por dos razones. En primer lugar, los estudios de colonización de trabajadores de la salud que no incluyen cultivo de las manos pueden fallar en detectar una gran proporción de individuos, quienes transitoria o persistentemente portan cepas de SARM³⁰. En segundo lugar, el aislamiento de SARM de las manos, pero no de las fosas nasales anteriores, implica que el trabajador de la salud sólo albergó temporalmente cepas de SARM. Si el personal está colonizado temporalmente, ellos no pueden transmitir SARM eficientemente entre instituciones; sin embargo, sí pueden servir como una fuente importante en la diseminación de SARM dentro de la institución³⁰. La mayoría de las cepas de SARM aisladas de los recién nacidos con sepsis y conjuntivitis, compartieron también la resistencia a la gentamicina y además mostraron los dos perfiles plasmídicos. Una cepa de SARM resistente a gentamicina aislada de un médico residente de pediatría presentó el mismo perfil plasmídico A, presente en 2 cepas de SARM resistente a gentamicina, provenientes de neonatos con conjuntivitis y de un neonato con infección en la sangre. El perfil plasmídico B presente en una cepa de SARM resistente a gentamicina de un paciente con sepsis neonatal en el mes de enero de 1998, también lo presentó

la cepa de SARM resistente a gentamicina aislada de las manos de la estudiante de enfermería, lo cual sugiere la posible presencia de una cepa endémica en el área estudiada. La cepa 548.1, aislada en enero de 1999 de un paciente con infección de herida, también presentó el mismo perfil plasmídico A, lo cual hace suponer que todavía en esa fecha circulaba la misma cepa aislada en octubre de 1998, probablemente debido a la falta de aplicación de estrategias específicas para la erradicación de la cepa de SARM. Este hallazgo sugiere que este personal de salud actuó como posible fuente para la diseminación de SARM de recién nacido a recién nacido, tal como lo han señalado otros investigadores en estudios similares^{1,26,31}. Para elucidar el origen y emergencia de SARM y prevenir su propagación en la Unidad de Alto Riesgo Neonatal del IAHULA, es necesario continuar con este tipo de estudio de manera sistemática, ampliando la búsqueda de estas cepas en un mayor número de trabajadores de la salud y del medio ambiente.

Bibliografía

- Carroll J, Pomeroy H, Russell R, Arbuthnott J, Keane C, McCormick O, et al. A new methicillin- and gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus* in Dublin: molecular genetic analysis. *J Med Microbiol* 1989;28:15-23.
- Apelbaum PC. Emerging resistance to antimicrobial agents in gram-positive bacteria. *Pneumococci. Drugs* 1996;51(Suppl 1):1-5.
- García-Rodríguez J, García-Sánchez E. El resurgimiento de los gram-positivos: razones, significado clínico y posibilidades de control. *Rev Clin Esp* 1997;197:3-10.
- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Kugler KC, Beach ML, et al. Survey of blood stream infections attributable to gram-positive cocci: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33:283-97.
- The SENTRY Participants Group (Latin America). En: Todd Lewis M, Gales AC, Sader HS, Pfaller MA, Jones RN. Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns for pathogens isolated from Latin American patients with a diagnosis of pneumonia: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;37: 63-74.
- Jarvis W, Thornsberry C, Boyce J, Hughes J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at children, hospitals in the United States. *Pediatrics Infect Dis* 1985;4:651-5.
- Hunt J, Purdus G, Tuglle D. Morbidity and mortality of an endemic pathogen: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Surg* 1988;156: 524-8.
- Vallés J. Bacteriemias en cuidados intensivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1997;15(Supl 3):8-13.
- Tinoco J, Salvador M, Pérez M, Santillán G, Salcido L. Epidemiología de las infecciones nosocomiales en un hospital de segundo nivel. *Salud Pública Méx* 1997;39:25-31.
- Donowitz L. High risk of nosocomial infection in the pediatric critical care patient. *Critical Care Med* 1986;14:26-8.
- Kotloff K, Blackmon L, Tenney J, Rennels M, Morris G. Nosocomial Sepsis in the Neonatal Intensive Care Unit. *Southern Med J* 1989;82:699-704.
- Tuo P, Silvestri G, Mantero E, Vallarino R, Balzarini C, Bracco G, et al. Infezioni nosocomiali da stafilococco aureo meticillino resistente in un reparto di terapia intensiva pediatrica polivalente. *Minerva Pediatr* 1991;43:11-7.
- Ng P, Fok T. Infections in the neonate. *Curr Opin Infect Dis* 1996;9:181-6.
- Center for Diseases Control and Prevention. Outline for Guidelines Criterly Nosocomial Infections Diagnostic. Washington: Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1988.
- Koneman E, Hallen S, Dowell V, Janda W, Sommers H, Winn W, editors. *Diagnóstico Microbiológico*, 3ª ed. México: Editorial Médica Panamericana, 1998.
- Iseberg H, editor. *Clinical Microbiology Procedure Handbook*. Washington: American Society for Microbiology, 1992.
- Marshall R. Standard methods for the examination of dairy products. *Am Pub Health Assoc (APHA)* 1992;402-7.
- Kloss WE, Bannerman TL. *Staphylococcus and Micrococcus*. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Clinical Microbiology*, 7ª ed. Washington: American Society Microbiology Press, 1999; p. 264-82.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. National Committee Clinical Laboratory Standards 1999; (Suppl 9).
- Sambrook J, Sritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A laboratory manual*, 2ª ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- Picazo de la Garza J, Romero J. *Infección nosocomial. Conceptos actuales en enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Barcelona: Doyma, 1992.
- Ponce de León S, Soto J. *Infecciones Intrahospitalarias*. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996.
- Malagón G, Hernández L, editors. *Infecciones Hospitalarias*, 2ª ed. Bogotá: Panamericana, 1999.
- Ribner B. Endemic multiply resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric population. *Am J Dis Control* 1987;141:1183-7.
- The Japan Antimicrobial Resistance Study Group; Yamaguchi K, Mathai D, Biedenbach DJ, Todd Lewis M, Gales, et al. Evaluation of *in vitro* activity of six broad-spectrum β -Lactam antimicrobial agents tested against over 2,000 clinical isolates from 22 medical centers in Japan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34:123-34.
- Schugurensky A, Cahn P, Osatnik G, Zorzopulos J, Trevisan A, Denoya C. An outbreak of multiply resistant *Staphylococcus aureus* in Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 1984;44:8-14.
- Mato R, Santos I, Venditti M, Platt D, Brown A, Chung M, et al. Spread of the multiresistant Iberian clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) to Italy and Scotland. *Microbial Drug Resistance* 1998;4: 107-12.
- Emmerson M. Nosocomial Staphylococcal Outbreaks. *Scand J Infect Dis* 1994;93:47-54.
- Farrington M, Ling J, Ling T, French L. Outbreaks of infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on neonatal and burns units of a new hospital. *Epidemiol Infect* 1990;105:215-28.
- Opal S, Mayer K, Stenberg M, Blazek J, Mikolich D, Dickensheets D, et al. Frequent acquisition of multiple strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by healthcare workers in an endemic hospital environment. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990;9:479-85.
- Reboli A, Jonh J, Levkoff A. Epidemic methicillin-gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. *Am J Dis Control* 1989;143:34-9.