

INFECCIÓN POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA

Juan J. Camarena y Roberto Sánchez
Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es la principal especie patógena de su género, causa común de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario. El interés actual del estudio de este patógeno deriva, bien de su elevada frecuencia, o por representar, en el caso de cepas resistentes a meticilina (aislados SARM), una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en nuestro país.

Las cepas SARM se identificaron de forma casi inmediata tras la introducción de la meticilina en terapéutica (Jevons, 1961; Knox 1961). Los primeros brotes de infección nosocomial se describieron en hospitales europeos al inicio de los años sesenta. Desde entonces, su prevalencia ha ido creciendo en la mayoría de áreas geográficas. En nuestro país, las encuestas sobre aislados SARM reflejan como, desde un 1,5% en 1986, se pasa a un 18-23% en 1996 (Grupo de Trabajo EPINE, 1995; Cercenado *et al.*, 1997), convirtiendo determinadas áreas hospitalarias, sobre todo aquéllas consideradas de alto riesgo, como las Unidades de Cuidados Intensivos, en zonas endémicas para este tipo de infección. Algunos estudios realizados en determinados períodos elevan estas cifras hasta un 40%.

La variabilidad de *S. aureus*, la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multiresistencia, ocasionalmente importantes. Aunque el término resistencia a meticilina incluye resistencia a derivados β -lactámicos, las cepas SARM presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos. A través de diversos mecanismos, estos aislados presentan resistencia al cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos e, incluso, quinolonas, describiéndose cada vez con mayor frecuencia brotes SARM sensibles sólo a los glucopéptidos.

La tendencia en los últimos años en España parece orientarse hacia el mantenimiento de los casos de aislados SARM en hospitales de menos de 500 camas, con un aparente descenso en aquellos de gran tamaño. Por contra, y este es un aspecto preocupante, se detecta un incremento significativo de casos de origen comunitario. Esto, junto con la reciente descripción de cepas SARM con disminución de sensibilidad a los glucopéptidos, que en la práctica significa la pérdida de posibles alternativas terapéuticas (Lowy, 1998), conduce a la necesidad de la detección y control de este tipo de aislados que, por fortuna, no han sido descritos por el momento en nuestro medio.

PAUTAS DE IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* se clasifica, junto con los géneros *Micrococcus*, *Stomatococcus* y *Planococcus* dentro de la familia *Micrococcaceae*, que incluye a los cocos Gram-positivos catalasa-positivos. Tras su aislamiento de muestras clínicas, estos cocos se diferencian de los pertenecientes a los géneros no patógenos por la positividad de diversas pruebas: i) sensibilidad a 100 μ g de furazolidina, ii) resistencia a 0,04 U de bacitracina, iii) negatividad de la prueba de oxidasa, iv) producción de ácido en anaerobiosis a partir de glucosa, v) producción de ácido a partir de glicerol en presencia de 0,4 mg/l de eritromicina, vi) sensibilidad a 200 mg/l de la endopeptidasa lisostafina, y vii) resistencia a la acción lítica de 100 μ g/ml de lisozima (Kloos y Bannerman, 1995).

El género *Staphylococcus* incluye actualmente 32 especies y 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas, con la excepción de *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie *anaerobius*, que son anaerobias estrictas. De éstas, sólo aproximadamente 12 se encuentran normalmente colonizando al huésped humano, siendo *S. aureus* sin duda, la principal dentro del mencionado género. Aparecen como bacterias cocáceas grampositivas agrupadas en parejas, tétradas, cadenas cortas o, de forma característica, como racimos irregulares. Son inmóviles y no esporuladas. Crecen bien en los medios de cultivo habituales, muestran β -hemólisis en medios con sangre, y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de NaCl (medio selectivo de Chapman).

Las principales características identificativas de *S. aureus* que sirven para su diferenciación de otras especies del género son: i) producción de coagulasa; ii) sensibilidad al disco de 5 μ g de novobiocina; iii) actividad fosfatasa alcalina; iv) producción aeróbica de ácido a partir de D-trealosa y D-manitol, y v) producción de desoxirribonucleasa termoestable. Las cepas de *S. aureus* dan positivas, además, las siguientes reacciones: β -glucosidasa, arginina descarboxilasa, N-acetilglucosamina, acetoína, reducción de nitratos, ureasa y resistencia a la polimixina B (disco 300 U) (Kloos y Bannerman, 1995).

MECANISMOS DE RESISTENCIA Y TÉCNICAS DE DETECCIÓN

La prevención de la aparición de brotes nosocomiales por SARM se basa en medidas que incluyen, tanto los sistemas de vigilancia epidemiológica, como el cribado de portadores en el personal sanitario o las medidas de aislamiento y control en caso necesario. Uno de los factores más importantes sería la detección de las cepas SARM mediante un método sencillo, rápido y fiable, con el fin de controlar tanto portadores como enfermos. Sin embargo, la particular expresión fenotípica de la resistencia que este microorganismo posee, supone un problema técnico para su detección microbiológica.

Mecanismos de resistencia a la meticilina

Se han descrito, al menos, tres mecanismos de resistencia de *S. aureus* a los β -lactámicos, en muchas ocasiones relacionados entre sí: producción de β -lactamasas, fenómenos de tolerancia y resistencia por proteínas fijadoras de penicilina (PBP) modificadas o supernumerarias, conocida como resistencia intrínseca a meticilina.

Las penicilinas resistentes a la penicilinasasa (oxacilina, meticilina, cloxacilina, etc.) y las cefalosporinas, poseen una estructura molecular que las protege frente a la acción de la β -lactamasasa. Sin embargo, el género *Staphylococcus* ha desarrollado mecanismos más complejos de resistencia frente a este grupo de antimicrobianos. El mecanismo de resistencia a meticilina de *S. aureus* se asocia en general a la síntesis de una nueva PBP (PBP2a ó PBP2') de 78 kDa con baja afinidad por la meticilina y el resto de los β -lactámicos. El determinante genético de esta proteína es de naturaleza cromosómica (gen *mec*). Este gen contiene *loci* distintos, el *mecA*, que codificaría la PBP2a, y el *mecR* o gen regulador (De Lencastre *et al.*, 1994). Las cepas SARM con resistencia verdadera o intrínseca a meticilina poseerían los marcadores gen *mecA* y PBP2a.

La expresión fenotípica de la resistencia a la meticilina es compleja, diferenciándose inicialmente dos tipos de cepas, unas con resistencia homogénea, o de alto nivel, y otras con resistencia heterogénea, que representan la forma más habitual. En este caso, sólo una población minoritaria de células expresaría dicha cualidad. Además, resulta necesario, para una buena expresión de la resistencia, una serie de condiciones de cultivo adecuadas (pH neutro, medios hipertónicos, incubación prolongada a 35 °C, etc.). Dentro de este grupo de cepas heterorresistentes se describen, a su vez, tres niveles según el porcentaje de población que exprese dicha resistencia (ver tabla).

Se han descrito también otras modalidades de resistencia en las que no se demuestra la presencia del gen *mecA* ni de la PBP2a, como son la denominada *borderline*, con niveles de resistencia bajos por hiperproducción de β -lactamasas, y la resistencia modificada (mod-SA) por alteración de las PBPs 1,3 y 4. Así, en los mecanismos de resistencia, están implicados otros genes con sus diferentes *loci*, incluyendo el gen *bla* (para β -lactamasasa) y el gen *fem* (factor esencial de resistencia a meticilina).

Modalidad	Nivel de expresión	<i>mecA</i>	PBP2a	β la	CMI meticilina		Frecuencia
					Mayoría	Subp-R	Subp-R
<i>Borderline</i>	Bajo	-	-	+++	8	-	-
MOD-SA	Bajo	-	PBP 1,3,4	+	8	-	-
Heterogénea	Bajo	+	+	+	1,5-3	200	10 ⁻⁷
Heterogénea	Medio	+	+	+	6-12	400	10 ⁻⁵
Heterogénea	Alto	+	+	+	10-200	800	10 ⁻³
Homogénea	Alto	+	+	+/-	800	800	1

β la: β -lactamasasa; CMI en μ g/ml; Subp-R: subpoblación resistente.

Métodos de laboratorio para la detección de la resistencia a meticilina

No existe un método universal para la detección de todos los tipos de resistencia a meticilina. Los métodos clásicos se basan en el conocimiento de que la temperatura (30-35 °C), osmolaridad (2-4% de NaCl), tiempo de incubación (24-48 h) y densidad del inóculo, son factores críticos para la detección óptima de las cepas heterorresistentes. De manera habitual, se puede realizar una técnica de difusión en agar Mueller-Hinton hipersalino (NaCl al 4%), con un disco de 1 μ g de oxacilina, incubando a 35°C durante 24-48 h (halo de inhibición \leq 10 mm). El estudio de las CMI mediante prueba E-test® con tira de oxacilina es una alternativa válida en los casos de duda, con una eficacia diagnóstica prácticamente similar a la del método de referencia de dilución en agar hipersalino, a concentración crítica de 6 μ g/ml de oxacilina (NCCLS,1997).

El empleo habitual en los laboratorios de Microbiología Clínica de sistemas automatizados de microdilución para la detección de este tipo de cepas obliga, por su menor sensibilidad, especificidad y eficacia diagnóstica con respecto al sistema de referencia (Sánchez, 1998), a confirmar los resultados mediante alguno de los métodos anteriormente comentados, inicialmente con el de difusión disco-placa. Un método alternativo, rápido y eficaz, aunque no aplicable en la rutina, es la detección del gen *mecA* por métodos de amplificación mediante PCR (Murakami *et al.*, 1991). Este método poseería la ventaja de no estar sujeto a las condiciones del crecimiento de la cepa, pudiendo aplicarse a gran número de aislados y podría ser aconsejable en casos de duda con valores de CMI cercanas al límite.

Se deberá tener presente que, cuando se detecta una cepa resistente a oxacilina, ninguna otra penicilina resistente a penicilinasasa, cefalosporina, combinación de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasasa o, incluso, imipenem, será eficaz para el tratamiento de este microorganismo, con independencia de que las distintas cepas muestren sensibilidad *in vitro* en los estudios de laboratorio.

Género *Staphylococcus* y sensibilidad a los glucopéptidos

Aunque la vancomicina o la teicoplanina siguen siendo el tratamiento de elección frente a una cepa SARM, en los últimos tiempos se ha descrito un fenómeno de disminución de sensibilidad de varias especies de estafilocos a estos antibióticos, incluyendo a *S. aureus*. La resistencia de *S. haemolyticus* a la vancomicina y/o teicoplanina ya fue descrita en 1987 y ocurre con cierta

frecuencia. El plásmido que codifica la resistencia a vancomicina en el género *Enterococcus* ha sido transferido *in vitro* por conjugación a *S. aureus*. Algunos trabajos recientes en los EEUU y Japón detectan el aislamiento de cepas de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a vancomicina (CMI=8 μ g/ml; CDC, 1997). Todos estos hechos hacen necesario confirmar la sensibilidad a la vancomicina ante un aislado estafilocócico. Pueden utilizarse sistemas automatizados o métodos de difusión disco-placa, y confirmar los resultados por siembra en un medio con 6 μ g/ml de vancomicina o mediante la técnica E-test® con tiras de vancomicina y teicoplanina.

ASPECTOS PATOGENICOS Y EPIDEMIOLOGICOS

El principal reservorio de *S. aureus* es el ser humano, hallándose en los portadores sanos, especialmente en las fosas nasales, así como en los pacientes infectados. La colonización puede asentar sobre la mucosa nasal, orofaringe, epidermis íntegra, úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de portadores de sonda.

S. aureus posee una gran capacidad para sobrevivir en un ambiente adverso y, por la acción de sus determinantes de patogenicidad (cápsula mucoide polisacárida, componentes antigénicos de la pared, producción de enzimas como catalasa, coagulasa, hialuronidasa, estafiloquinasas, lipasas, β -lactamasas, o la secreción de diversas toxinas como la exotoxina epidermolítica, enterotoxinas o la toxina del síndrome de *shock* tóxico), acaba produciendo infección.

Además, *S. aureus* interactúa con múltiples receptores del huésped a través de diversos componentes de superficie. Presenta asimismo una elevada capacidad de adherencia a diversos sustratos *in vitro*, por mecanismos que se activan también sobre diversos materiales inanimados como el polimetacrilato el teflón o la mayoría de materiales protésicos.

Al igual que *S. aureus* sensible a la meticilina, las cepas SARM se introducen en el medio hospitalario a través de pacientes, visitantes o trabajadores sanitarios. El reservorio fundamental lo constituyen los pacientes ingresados que están infectados o colonizados, extendiéndose a otros pacientes principalmente por medio de las manos del personal sanitario (infección cruzada). A medida que progresa un brote epidémico, aumenta el número de portadores nasales de SARM que constituyen, a menudo, la propia fuente de infección. La transmisión a través del entorno inanimado (reservorio ambiental) puede ser digna de mención, especialmente en ciertas áreas, como en las Unidades de Cuidados Intensivos (Pahissa, 1997). También puede producirse por vía aérea, en los pacientes intubados, o por proximidad con pacientes afectados de neumonía. El porcentaje de portadores de *S. aureus*, así como la densidad de la colonización, aumenta en los grupos de pacientes sometidos a punciones frecuentes, como los enfermos hospitalizados, diabéticos con dependencia de insulina, usuarios de drogas por vía parenteral y hemodializados.

La infección se produce, en general, en zonas con alteraciones previas de la barrera mucocutánea debidas a heridas traumáticas, intervenciones quirúrgicas, instrumentación, drogadicción parenteral, enfermedades dermatológicas, úlceras isquémicas, etc. A partir de esta fuente endógena, *S. aureus*, que se comportaba hasta entonces como comensal, rompe el delicado equilibrio que impedía su capacidad de proliferación y ocasiona una infección local o generalizada. La morbilidad será variable y dependerá de factores propios del huésped, del tipo de infección y de la precocidad del tratamiento.

Existen factores asociados que favorecen la adquisición nosocomial de infección por SARM entre los que destacan: i) la manipulación diagnóstico-terapéutica (catéter intravascular, sondaje vesical, intubación orotraqueal, etc), ii) estancia en UCI, iii) enfermedad grave de base, iv) antibioterapia previa, v) estancia nosocomial prolongada, vi) cirugía previa o herida quirúrgica, vii) úlceras isquémicas.

Las medidas más eficaces para el control de las infecciones por *S. aureus* en general y SARM en particular, son las barreras que limitan su extensión. Entre las precauciones habituales figuran el lavado de las manos antes y después de cualquier contacto con infectados, y el empleo de barreras que eviten el contacto con fluidos o sangre, como guantes de un solo uso y bata. Aunque en la mayoría de los servicios hospitalarios suele bastar con las precauciones habituales de contacto, en el transcurso de brotes con pacientes afectados de neumonía por SARM, es necesario utilizar mascarilla. Cuando se recurre a los cultivos microbiológicos de vigilancia para el control de un brote, suele utilizarse mupirocina, tres veces al día, durante 5 días, para la erradicación nasal de portadores SARM. Los pacientes en situación aguda infectados por SARM no suelen requerir aislamiento, a menos que no sean colaboradores, su higiene personal sea deficiente, que tengan alguna herida infectada que no pueda ser controlada, o que presenten una neumonía por SARM.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN LOS SARM

Desde el punto de vista clínico, las infecciones por SARM no difieren de las producidas por *S. aureus* sensible a la meticilina y, por tanto, las cepas resistentes tienen la misma capacidad patogénica para colonizar y causar infección.

Las infecciones más comunes son las que afectan al tejido cutáneo y subcutáneo (lesiones supuradas o abscesificadas), las infecciones de herida quirúrgica, bacteriemia, neumonía, osteomielitis, artritis y la infección asociada al catéter intravascular o sondaje urinario. Entre las complicaciones potencialmente graves de la bacteriemia estafilocócica se encuentran el *shock* séptico y las infecciones metastásicas graves, como la endocarditis aguda, miocarditis, pericarditis, meningitis, artritis, osteomielitis, neumonía y abscesos.

La multirresistencia en SARM es también un factor clave de trascendencia clínico-terapéutica y sobre los costes sanitarios, por la necesidad de tratamientos antibióticos parenterales que prolongan la estancia media de los pacientes afectados. Además, el uso masivo y selectivo de glucopéptidos, puede llegar a desencadenar, por presión selectiva, la resistencia a este tipo de compuestos, con imprevisibles consecuencias.

CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLOGICA DE LOS AISLAMIENTOS DE SARM

Para la adecuada investigación de un brote epidémico por SARM se requerirá básicamente del aislamiento e identificación de las

cepas causales, a partir de los pacientes infectados y, en los casos indicados, a partir de muestras de personal sanitario y ambientales potencialmente colonizado o contaminado, respectivamente.

La detección y control de las infecciones por *S. aureus* pasa por una serie de fases consecutivas: i) diagnóstico y control de las infecciones o colonizaciones, y detección precoz de casos de SARM; ii) realización de controles para detección de reservorios; iii) realización de cultivos de vigilancia; iv) establecer un sistema de información sobre las áreas y extensión del brote hospitalario; v) estudio de la sensibilidad de las cepas circulantes a los posibles tratamientos establecidos; y vi) caracterización fenotípica y genotípica de los aislamientos, como método a aplicar para un mejor conocimiento de la circulación y origen de los casos.

Se ha utilizado una amplia variedad de métodos de tipificación, encaminados a demostrar la similitud fenotípica o genotípica entre los distintos aislamientos, como base para definir el brote epidémico, constatar la fuente de contaminación, la vía de transmisión y, en última instancia, poder tomar las medidas adecuadas de control. Los métodos más comunes (antibiotipia, biotipia, fagotipia) se basan en las diferencias fenotípicas entre cepas, pero presentan en general una serie de limitaciones, principalmente debidas a la expresión variable de los caracteres fenotípicos. La antibiotipia mediante difusión en agar con discos de antibióticos es el método de tipificación inicial más frecuente para reconocer y agrupar las cepas circulantes. A pesar de poseer menor poder de discriminación que los métodos de análisis molecular, se ha constatado su utilidad para la caracterización de brotes nosocomiales por SARM (Olmos *et al.*, 1997).

En la actualidad está aceptado que sólo el análisis molecular nos permitirá discernir acerca del origen clonal de los aislamientos. Entre las técnicas genotípicas utilizables, la electroforesis en campo pulsante es el método con mayor poder de discriminación (Bannerman *et al.*, 1995). La amplificación mediante la PCR ha demostrado ser una herramienta útil para la detección y caracterización genética de múltiples microorganismos (Camarena *et al.*, 1995). El análisis de los fragmentos polimórficos amplificados aleatoriamente (AP-PCR), está siendo cada vez más empleado para discriminar entre aislados de la misma especie (Power, 1996). Esta técnica ha sido aplicada para caracterizar cepas de SARM, con resultados satisfactorios, ya que ha demostrado una capacidad de tipificación con mayor poder de discriminación que los métodos fenotípicos convencionales (antibiotipo o fagotipo), correlacionándose bien con las técnicas de polimorfismo genómico con enzimas de restricción (van Belkum *et al.*, 1994). Recientemente, se ha publicado la aplicación de una técnica de AP-PCR optimada, útil en la caracterización de las especies de *Staphylococcus* (Olmos *et al.*, 1998) y con una capacidad de discriminación y detección de brotes SARM similar a las complejas técnicas de referencia, como la electroforesis en campo pulsante.

TRATAMIENTO

Aunque en los últimos tiempos se ha documentado, en Japón (Hiramatsu *et al.*, 1997) y en EEUU (CDC, 1997), el hallazgo de cepas SARM con sensibilidad reducida a la vancomicina, este antibiótico, con quien se tiene una mayor experiencia clínica, y la teicoplanina, constituyen en la actualidad los fármacos de primera elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cepas SARM. La teicoplanina posee una vida media más larga y puede administrarse por vía intramuscular, sin requerir control de dosis; también presenta menos efectos secundarios.

Se ha tratado de combinar la vancomicina con la rifampicina, ácido fusídico o fosfomicina, aunque en los ensayos clínicos aleatorios no se ha demostrado la ventaja de dichas combinaciones sobre la vancomicina sola (Michel y Gutmann, 1997). Estos antibióticos no deben prescribirse solos porque seleccionan mutantes resistentes, pero pueden ser útiles cuando se combinan con la vancomicina para el tratamiento de las infecciones óseas, articulares, endocarditis o meningitis, gracias a su mayor distribución tisular.

Las cepas SARM son, a menudo, resistentes a los aminoglucósidos, quinolonas, clindamicina y macrólidos. Además, no siempre la demostración de sensibilidad *in vitro* frente a estos antimicrobianos lleva aparejados buenos resultados terapéuticos. La asociación de vancomicina con gentamicina, si la cepa SARM es sensible a ésta, podría emplearse en casos de endocarditis infecciosa sobre prótesis valvulares (Aubry-Damon *et al.*, 1997).

Algunas nuevas fluoroquinolonas, como el trovafloxacin y el DU-6859a (Giamarellos-Borboulis *et al.*, 1997), estreptograminas como la RP-59500 (quinupristina-dalfopristina), oxazolidinonas como el linezolid, y los derivados carbapenémicos con elevada afinidad por la PBP2a, como el L-695,256 son nuevos agentes antibacterianos con potente actividad frente a los SARM, pendientes de validar mediante ensayos clínicos (Michel y Gutmann, 1997).

BIBLIOGRAFÍA

Aubry-Damon H, Legrand P, Brun-Buisson C, Astier A, Soussy CJ, Leclercq R. Reemergence of gentamicin-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Role of an infection control program and changes in aminoglycoside use. *Clin Infect Dis* 1997; 25:647-653.

Bannerman TL, Hancock GA, Tenover FC, Miller JM. Pulsed-Field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1995; 33:551-555.

Camarena JJ, Nogueira JM, Dasí MA, Moreno F, García R, Ledesma E, Llorca J, Hernández J. DNA amplification fingerprinting for subtyping *Neisseria gonorrhoeae* strains. *Sex Trans Dis* 1995; 22:128-135.

Anónimo. CDC Update. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-United States, 1997. *MMWR* 1997; 46:813.

Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, Alcalá L, Bouza E. Grupo de Trabajo para el estudio de estafilococos. Situación actual de la resistencia de *Staphylococcus* en España. Cuarto estudio nacional (1996). *Rev Clin Esp* 1997; 197:12-18.

- De Lencastre H, De Jonge BLM, Matthews PR, Tomasz A. Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1994; 33:7-24.
- Giamarellou-Bourboulis EJ, Grecka P, Galani I, Giamarellou H. Actividad comparativa *in vitro* y efecto letal de trovafloxacin, DU-6859a, levofloxacin y sparfloxacino frente a *Staphylococcus aureus*. Clin Drug Invest. 1997; 14:530-533.
- Grupo de Trabajo EPINE. Prevalencia de las infecciones nosocomiales en los hospitales españoles EPINE 1990-1994. Barcelona: Vaqué Rafart J. (ed.), 1995.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997; 40:135-136.
- Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. Br Med J 1961; 1:124-125.
- Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. En: Murray PR *et al.* (eds.). Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. 1995. American Society for Microbiology Press, Washington D.C, pp 282-298.
- Knox R. "Celbenin"-resistant staphylococci. Br Med J 1961; 1:126.
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998; 339:520-532.
- Michel M, Gutmann L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci: therapeutic realities and possibilities. Lancet 1997; 349:1901-1906.
- Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant staphylococci by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991; 29:2240-2244.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically- Fourth edition; Approved Standard 1997; 17(2)M7-A4.
- Olmos A, Sánchez R, Navarro JC, Camarena JJ, Birlanga MJ, Nogueira JM. Eficacia del antibiotipado en la detección precoz de brote nosocomial de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (SARM). Resumen Sesiones nº 17. VII Reunión de la SEIMC. Madrid. 1997.
- Olmos A, Camarena JJ, Nogueira JM, Navarro JC, Risen J, Sánchez R. Application of an optimized and highly discriminatory method based on arbitrarily primed PCR for epidemiologic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial infections. J Clin Microbiol 1998; 36:1128-1134.
- Pahissa A. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina. Ejemplo de la complejidad actual de los hospitales. Med Clin (Barc) 1997; 108: 29-30.
- Power EGM. RAPD typing in microbiology-a technical review. J Hosp Infec 1996 34: 247-265.
- Van Belkum A, Bax R, van der Straaten JC, Quint WGV, Veringa E. PCR fingerprinting for epidemiological studies of *Staphylococcus aureus*. J Microbiol Methods 1994; 20:235-247.