

ESTUDIO DE DEFICIENCIA DE LECTINA FIJADORA DE MANOSA
EN NIÑOS CON SEPSIS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
PROCEDENTES DEL SUR COLOMBIANO

MONICA ISABEL PEREZ PARDO
HAROLD HUMBERTO DUSSAN ROJAS

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
POSTGRADO EN PEDIATRIA
NEIVA
2.005

ESTUDIO DE DEFICIENCIA DE LECTINA FIJADORA DE MANOSA
EN NIÑOS CON SEPSIS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
PROCEDENTES DEL SUR COLOMBIANO

MONICA ISABEL PEREZ PARDO
HAROLD HUMBERTO DUSSAN ROJAS

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título
de especialista en Pediatría

Director
JAIRO RODRIGUEZ
P.H.D. Inmunología
Profesor titular Universidad Surcolombiana

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
POSTGRADO EN PEDIATRIA
NEIVA
2.005

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Marisol Garzón, Pediatra, profesora asociada de la Universidad Surcolombiana, por sus enseñanzas y gran colaboración en la elaboración del presente estudio.

Doris Salgado, Pediatra, profesora titular de la USCO, por sus enseñanzas durante nuestra carrera profesional.

Edgar Arboleda, Pediatra, profesor titular de la USCO, por sus valiosas orientaciones.

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Neiva, Octubre de 2.005

CONTENIDO

	pag.
INDICE	1
RESUMEN	6
INTRODUCCION	7
1. MARCO TEORICO	10
1.1 Generalidades del Staphylococcus Aureus	10
1.2 Factores de virulencia	11
1.3 Situación de Staphylococcus Aureus Meticilino Resistente	16
1.4 Relación entre la Lectina Fijadora de Manosa (MBL) e infecciones por Staphylococcus Aureus.	17
2. METODOLOGIA	21
2.1 Diseño metodológico	21
2.2 Población y muestra	21
2.3 Variables utilizadas	21
2.4 Procedimientos y técnicas de recolección de datos	22
2.5 Técnicas e instrumentos	22
3. RESULTADOS	24
4. DISCUSION	29
5. RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	34

LISTA DE TABLAS

	pag.
Tabla 1. Patologías causadas por S. aureus.	15
Tabla 2. Resultados y variables de estudio de relación MBL y S. aureus	24
Tabla 3. Sensibilidad del germen aislado.	28

LISTA DE GRAFICAS

	pag.
Gráfica 1. Resistencia antibiótica de S. aureus en el Hospital Universitario de Neiva.	9
Gráfica 2. Distribución por sexo.	24
Gráfica 3. Relación entre nivel de MBL e infección por S. aureus.	25
Gráfica 4. Infección por S. aureus e ingreso a UCI.	25
Gráfica 5. Niveles de MBL y necesidad de UCI o piso.	26
Gráfica 6. Niveles de MBL y estancia en UCI.	26
Gráfica 7. MBL y estancia hospitalaria.	26
Gráfica 8. Nivel de MBL y PIM SCORE.	27
Gráfica 9. Sensibilidad al germen aislado.	28

LISTA DE FIGURAS

	pag.
Figura 1. Staphylococcus Aureus.	10
Figura 2. Esquema de la estructura antigénica de S. aureus.	13
Figura 3. Imagen del mecanismo de acción del súper antígeno.	14
Figura 4. Estructura molecular y actividades biológicas de las colectinas.	17

LISTA DE ANEXOS

	pag.
Anexo A. PIM SCORE (Pediatrics Index of Mortality)	34
Anexo B. Consentimiento informado.	35

RESUMEN

La infección por *S. Aureus* es de distribución mundial, tasas de incidencia anual de 28,4/100.000 y mortalidad del 19 – 34%, constituyen un problema de salud pública con una incidencia creciente de cepas con resistencia antibiótica.

En el suroccidente colombiano existe una alta incidencia de estafilococemias severas, por lo cual se buscó un tipo de inmunodeficiencia específica relacionada.

Se midió niveles de MBL en niños de 0 – 13 años, con sepsis por *S. aureus* en el Hospital Universitario de Neiva durante un periodo de 8 meses, con hemocultivos positivos, sin otra inmunodeficiencia conocida asociada. Se aplicó el PIM score como test pronóstico, se analizó resistencia del *S. Aureus*, estancia hospitalaria, en unidad de Cuidados Intensivos, procedencia y grupo étnico.

El estudio no arrojó cifras concluyentes en cuanto a incidencia de estafilococemia y relación de niveles de MBL bajos. Se relacionó con estancia hospitalaria total prolongada, mayor estancia en unidad de cuidados intensivos y cierta susceptibilidad en grupos étnicos indígenas provenientes del Putumayo y zonas rurales de Pitalito – San Agustín.

ABSTRACT

The infection by *S. Aureus* is world wide distribution. Annual incidence rates of 28,4/100.000 and mortality from 19 to 34% constitute a public health problem with a growing incidence of antibiotic resistance sepa.

In Colombian south western region exists a high incidence of severe Staphylococemia. This is the cause of the searching of a related specific immunodeficiency.

MBL levels were measured among 0-13 years old boys with *S. Aureus* sepsis at Neiva university hospital during an eight month period with positive hemocultivos without a known immunodeficiency.

PIM score was applied like a prognostic test, *S. Aureus* resistance was analyzed: hospital permanence stay, ICU, origin and ethnical group.

The study didn't give any conclusive figure associated with the Staphylococemia incidence and the relation with low MBL levels. It was related with total long hospital permanence stay, longer permanence at ICU and some sort of susceptibility in Indian ethnical groups coming Putumayo and rural zones from Pitalito and San Agustín

INTRODUCCION

El *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), es considerado el principal patógeno responsable habitualmente de infecciones a nivel comunitario y nosocomial, tratándose de un agente altamente virulento y con una creciente resistencia a los fármacos antimicrobianos. Hace unas décadas esta problemática se suscribía a infecciones intra hospitalarias de pacientes con factores de riesgo que incluyen hospitalización o cirugía recientes, residencia en hospitales psiquiátricos, diálisis, y uso de dispositivos vasculares, sin embargo, recientemente se ha visto un aumento en la incidencia de infección por *S. aureus* en pacientes provenientes de la comunidad previamente sanos. Estudios en niños del área rural describen al *S. aureus* como primera causa de infecciones adquiridas en la comunidad (35%) y de las bacteriemias por este germen en los servicios de urgencias de pediatría, cerca del 50% son provenientes de la comunidad, lo que lo convierte en una seria amenaza para la población pediátrica por lo demás sana. Estas cepas adquiridas en la comunidad además de mostrar patrones de resistencia antibiótica diferentes, tienen factores de virulencia específicos que les confieren mayor capacidad de producir enfermedad invasiva. Además, estudios sobre el impacto económico de la infección por este germen, muestran que estos pacientes tienen un doble de estancia hospitalaria, con un costo directo de US \$32.000 comparado con US 13.263 en pacientes hospitalizados por otras causas.

La Lectina Fijadora de Manosa (MBL) es un componente del sistema inmune y juega un papel importante en la inmunidad innata.

Estudios demuestran que el complejo MBL- MASP (proteína de serina asociada a MBL) es capaz de potenciar la activación del complemento por otras vías. Esto ha sido demostrado en estudios de sueros de paciente deficientes en MBL e incubados con *S.aureus*, a los que se les adiciona MBL- MASP en concentraciones crecientes observándose, con concentraciones de lectina mayores a 0.6 mcg/ml, un aumento significativo en el depósito de factor C4 y un aumento, en menor cantidad, en el depósito de factor C3b y iC3b en la superficie del microorganismo que aumenta su fagocitosis por el neutrófilo. Este estudio demostró que además el complejo MBL-MASP, a concentraciones entre 1,25 – 2,5 mcg/ml de lectina, genera un aumento en la fagocitosis

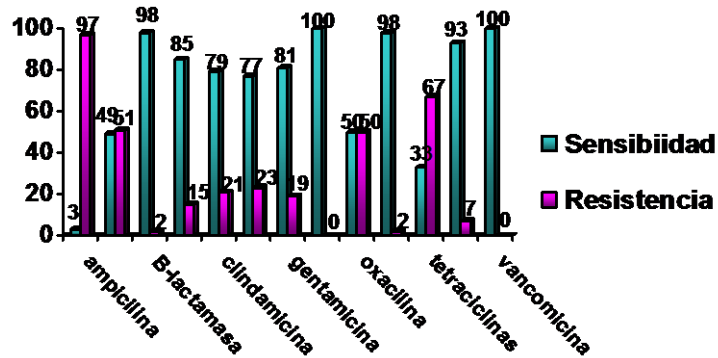
del *S. aureus* de forma independiente al complemento, tal vez mediado por Inmunoglobulina. Por lo anterior se sugiere que la MBL es una de las principales moléculas reguladoras del sistema de complemento lo que la convierte en una pieza clave en la defensa inicial de microorganismos susceptibles de reconocer como es el caso del *S. aureus*.

Estudios experimentales en modelos animales mostraron una mortalidad del 100% en ratones con déficit de MBL a las 48 horas de inoculación intravenosa de *S. aureus* comparado con un 45% de ratones control con un incremento de 10 a 100 veces más en la concentración del germen en tejidos, con un aumento en presencia de neutropenia. Otro estudio sugiere que alteraciones en el gen de MBL se relaciona con complicaciones de pacientes con fibrosis quística e infectados por *Staphylococcus aureus*, reportando deficiencia en la vía de la MBL y empobreciendo su pronóstico. En un estudio en pacientes caucásicos con sepsis (252 pacientes), el 20% tuvieron haplotipos relacionados a niveles bajos de MBL en los cuales se encontró un mayor porcentaje de cultivos positivos al ingreso a UCI.

Lo anteriormente descrito sugiere una estrecha relación en la susceptibilidad de infecciones sistémicas y severas por *S. aureus* en poblaciones de pacientes que muestren mutaciones o polimorfismos asociados a niveles bajos de MBL.

En el hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva (Huila) se atendieron durante el año 2004 un total de 11.195 pacientes pediátricos en los cuales se hicieron 89 aislamientos de *S. aureus*, de los cuales 50% fueron meticilino resistente con una mortalidad del 3.8%. Un alto porcentaje (47%) de los pacientes requirió posteriormente manejo en la unidad de cuidado intensivo con una estancia hospitalaria superior a los 20 días.

Gráfica 1. Resistencia antibiótica de *S. aureus* en el Hospital Universitario de Neiva.



El hospital Universitario de Neiva es el sitio de referencia para toda la población de la región Surcolombiana constituida por los departamentos del Cauca, Caquetá, Huila, Nariño, y Putumayo. Tiene área geográfica social y cultural ubicada al sur y occidente de la república de Colombia, con una extensión de 219.978 kilómetros cuadrados equivalente al 19.26 % del territorio nacional y una población de 5'947.869 habitantes, que equivalen al 14 % del total del país. Su población esta constituida por diferentes etnias con una amplia población indígena (guambiano, paez, yanacoca, emberá, ingá, coconuco, pijao, orocapo, yanabicos, etc) y una importante población afro colombiana y de mestizos. Estas observaciones locales sobre una mayor predisposición y gravedad de los niños que se infectan por *S. aureus* nos llevan a plantearnos la siguiente pregunta:

Existe deficiencia de MBL en los niños de esta región como resultado de mutaciones o polimorfismos, que los predispongan a sepsis por *S aureus*?

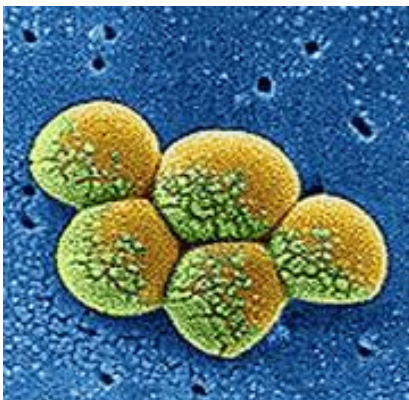
1. MARCO TEORICO

1.1 Generalidades del *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está ubicado junto a los géneros *Micrococcus*, *Planococcus* y *Stomatococcus* en la Familia *Micrococcaceae*. Los integrantes del género *Staphylococcus*, son cocos Gram positivos, de 0.5-1.5 μm de diámetro, catalasa positivo, que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, tétradas o formando racimos irregulares (término derivado del griego *staphylé*: racimo de uvas, Ogston, 1883). Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula (figura 1). *S. aureus*, especie coagulasa positiva, es un reconocido patógeno humano, siendo agente etiológico de un amplio espectro de infecciones de origen comunitario y nosocomial (3,4).

Dentro del género *Staphylococcus* se distinguen fundamentalmente por su importancia patogénica 3 especies: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. El *S. aureus* es el que mayor importancia tiene por su frecuencia y su potencia patogénica caracterizada por su capacidad coagulante del plasma (coagulasa positivos). Los otros dos restantes son coagulasa negativos y sólo son patógenos en algunas circunstancias como gérmenes oportunistas. Existen otras especies de menor importancia clínica como *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, entre otros.

Figura 1: *Staphylococcus aureus*



1.2 Factores de virulencia

El *S. aureus*, tiene una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca componentes de pared celular y una gran variedad de exoproteínas que contribuyen en su habilidad para colonizar y causar enfermedad.

El genoma del estafilococo está representado por un cromosoma circular (de aproximadamente 2.800 pares de bases), además de profagos, plásmidos y transposones. Los genes responsables de la virulencia y de la resistencia a los antimicrobianos se hallan en el cromosoma y en los elementos extracromosomales. Estos genes pueden ser transferidos entre las diferentes cepas de estafilococos, diferentes especies y también entre otras bacterias gram positivas mediante elementos extracromosómicos (5).

Los principales factores de virulencia se enumeran a continuación:

1. Cápsula.
2. Pared: el peptidoglicano puede tener actividad endotóxica y estimular la liberación de citoquinas por macrófagos, activación del complemento y agregación plaquetaria.
3. Proteínas de superficie.
 - a. Proteína A: unión a la porción Fc de las Ig.
 - b. MSCRAMM: componentes de la superficie bacteriana que reconocen las moléculas de adhesión de la matriz extracelular (tejido conjuntivo)
4. Toxinas: citotoxinas, exfoliativas, leucocidina.
5. Enzimas: coagulasa, DNAasa, catalasa, proteasa, lipasas, hialuronidasas, betalactamasas.

En el *S. aureus* cerca del 50% del total de la masa de la pared celular está conformada por ácido teicoico, el cual se forma por cadenas largas de ribitol fosfato, unidas al ácido murámico de los peptidoglicanos vía uniones fosfodiéster (6).

Otro componente importante de la pared celular es el ácido lipoteicoico, que puede ser considerado la contraparte gram positiva de los lipopolisacáridos. Contiene una capa lipídica de diacilglicerol dentro de una estructura similar a fosfolípidos y varias unidades de

glicerolfosfato altamente cargadas. Es esencial para el crecimiento bacteriano (7). Además está involucrado en la regulación de la concentración de calcio y magnesio en la pared celular y en la regulación de la actividad de enzimas autolíticas; pudiendo además funcionar como especie de mensajero en la síntesis del ácido teicoico de la misma pared celular (8,9).

Uno de los componentes mayores de la pared celular es el peptidoglicano, el cual se encuentra también en la pared de los gérmenes gram negativos en menor cantidad. Consiste en unidades alternadas de disacáridos, ácido N- acetilmurámico y N-acetilglucosamina con enlaces β 1,4 (6). Estas cadenas de polisacáridos, tienen a su vez, enlaces cruzados por cadenas de tetrapéptidos (L-arginina, D-glutamina, L-lisina y D-alanina) unidas al ácido N-acetilmurámico y por un puente de pentaglicina específico para *S. aureus*.

El ácido lipoteicoico y peptidoglicano son de gran importancia en la estimulación de la respuesta inmunológica. Inducen liberación de óxido nítrico, IL-1, IL-6 y TNF alfa por los monocitos y los macrófagos gracias a su reconocimiento por los receptores Toll Like presentes en estas células; además potencian la actividad oxidativa in vitro. También inducen liberación de $\text{IFN}\gamma$, activación de la vía del complemento; terminando por producir falla circulatoria en el hospedero (10, 11,12). De igual manera al ser retados por el ácido lipoteicoico, los macrófagos liberan eicosanoides, factor activador de plaquetas y oxígeno reactivo, sustancias con importantes propiedades vasoactivas (13).

La mayoría de los estafilococos producen microcápsulas y a partir del polisacárido capsular se han identificado 11 tipos diferentes, siendo los tipos 5 y 8 los responsables del 75% de las infecciones humanas. La mayoría de las cepas de MRSA aisladas son del tipo 5. Ha sido determinada la composición química de 4 de los 11 polisacáridos antifagocíticos, incluidos los tipos 5 y 8; todos ellos están químicamente relacionados (14).

Además, la pared de *S. aureus* posee muchas proteínas de superficie, las cuales tienen algunas características comunes. Éstas incluyen una secuencia de señal secretoria en el extremo amino terminal, con aminoácidos de carga positiva, los cuales se extienden hasta el citoplasma; un extremo hidrofóbico que se extiende hasta la membrana y una región de anclaje a la pared celular, todos ubicados en el extremo carboxílico. Un dominio de

adherencia en el amino-terminal, que está expuesto en la superficie de la célula bacteriana, permite que alguna de estas proteínas actúen como adhesinas. La proteína A, es el prototipo de estas proteínas, y tiene propiedades antifagocíticas que están basadas en su capacidad de unión a la porción Fc de las inmunoglobulinas (15).

Varias de estas proteínas de superficie relacionadas se unen a moléculas de la matriz extracelular, y han sido denominadas como MSCRAMM (componentes de la superficie bacteriana que reconocen las moléculas de adhesión de la matriz celular). Estudios recientes sugieren que estas proteínas juegan un papel importante en la colonización de los tejidos del hospedero por el estafilococo (16). (Figura 2)

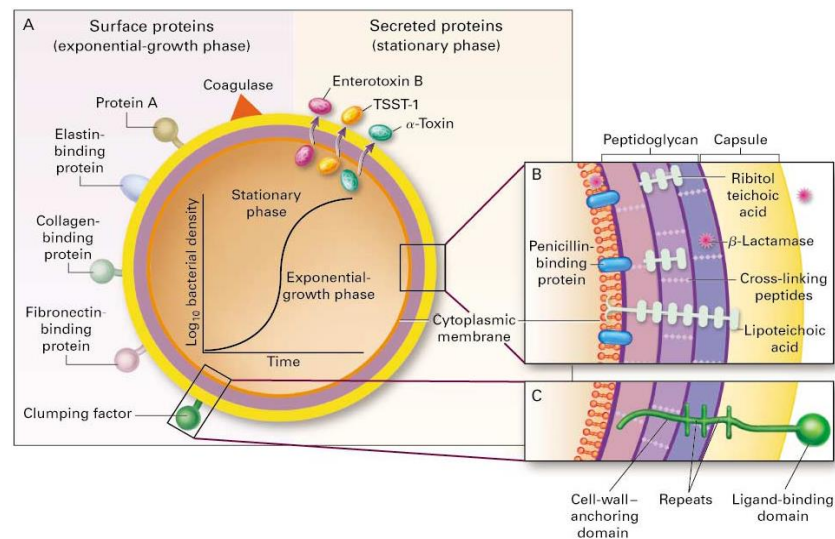


Figura 2. Esquema de la estructura antigénica de *Staphylococcus aureus*

Tomado de Staphylococcus Aureus Infections. NEJM 1998; 339(8):521.

Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas que incluyen 4 hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta) nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasa. La principal función de estas proteínas sería convertir tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el desarrollo bacteriano. Algunas cepas producen una o más exoproteínas adicionales, que incluyen:

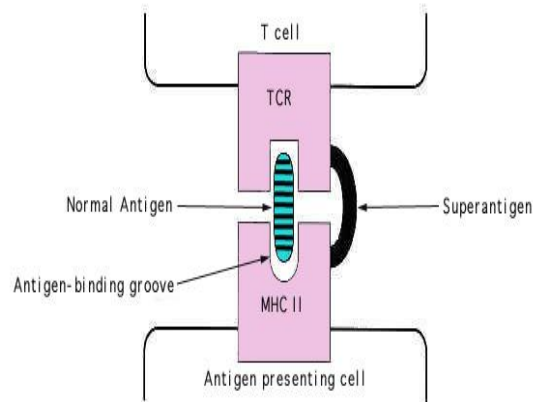
- Toxina -I del shock tóxico estafilocócico (TSST-I)
- Toxina exfoliativa (ETA y ETB)

- Leucocidina y
- Enterotoxinas estafilocócicas (SE): SEA, SEB, SECn, SED, SEE, SEG, SEH Y SEI.

Son proteínas inmunológicamente diferentes, con pesos moleculares que oscilan entre 28.000 y 35.000 dalton. Cada una de estas toxinas es conocida por sus potentes efectos en células del sistema inmune, pero muchas de ellas también tienen otros efectos biológicos, siendo reconocidas como súperantígenos pirogénicos (PTSAgs) (figura 3). Cada una de estas exotoxinas exhiben al menos tres propiedades biológicas:

- Pirogenicidad,
- Superantigenicidad, que se refiere a la habilidad de estas exotoxinas de estimular la proliferación de linfocitos T sin tener en cuenta la especificidad antigénica de estas células.
- Aumento de sensibilidad a la acción de endotoxina en modelos experimentales en conejo.

Figura 3: Imagen del mecanismo de acción del superantígeno.



Las enterotoxinas son potentes agentes eméticos en tanto los otros integrantes no lo son y por esta razón están históricamente relacionadas con un cuadro bien definido que es la intoxicación alimentaria. Son producidas en la fase exponencial del desarrollo y los genes que las codifican se encuentran en plásmidos, bacteriófagos o elementos genéticos

heterólogos, referidos como islotes de patogenicidad. Su expresión es controlada por al menos tres sistemas reguladores globales denominados:

- Gen regulador accesorio (agr)
- Gene accesorio regulador estafilocócico (sar)
- Sistema represor por catabolitos (17).

El *S. aureus* tiene la propiedad de producir diferentes formas de enfermedad, con variados grados de severidad; pero podemos clasificarlas con fines didácticos en aquellas donde predomina el exudado o absceso piógeno local (infecciones de la piel y sus anexos), las que están producidas fundamentalmente por las toxinas extracelulares (infecciones acompañadas de exantema o intoxicación alimentaria) y un tercer grupo caracterizado por la siembra bacterémica (infección sistémica) (tabla 1).

Tabla 1. Patologías causadas por *Staphylococcus aureus*

INFECCIONES ESTAFILOCOCCICAS		
Piel y anexos	Mediada por Toxinas	Sistémicas
Foliculitis, forunculosis, ántrax, impétigo, mastitis, hidradenitis supurativa, piodermia.	Síndrome estafilocócico de piel escaldada, Síndrome de choque tóxico, Intoxicación alimentaria	Endocarditis, neumonía, empiema, osteomielitis, pericarditis, artritis, piomiositis, bursitis séptica

Una vez que el estafilococo supera la barrera mecánica que suponen las mucosas y la piel, tiene una gran capacidad para producir infecciones supuradas locales y a distancia. Éstas se caracterizan por presencia de tejido necrótico, fibrina y gran número de leucocitos polimorfonucleados vivos o muertos. Si los mecanismos de defensa locales no son eficaces, los estafilococos, a través de los vasos linfáticos, alcanzan el torrente circulatorio y se diseminan por toda la economía pudiendo producir bacteriemia, abscesos metastásicos múltiples, siendo más frecuentes en piel, articulaciones, hueso, endocardio y pulmón (1, 3,4).

1.3 Situación del *Staphylococcus Aureus* Meticilino resistente

Pueden discriminarse las cepas de *S.aureus* según su resistencia a fármacos de la siguiente manera:

- MSSA: Sensible a meticilina.
- MRSA: Resistente a meticilina.
- VISA: Resistencia intermedia a vancomicina.
- VRSA: Resistente a vancomicina.

El primer informe de *S. aureus* resistente a Penicilinas data de 1942, inicialmente por cepas de origen hospitalario y posteriormente por cepas de origen en la comunidad (23). Para 1960, el 80% de *S. aureus* de origen tanto hospitalario como comunitario era resistente a penicilina; y en la actualidad más del 90% de los aislamientos de *S. aureus* produce penicilinas (24,25).

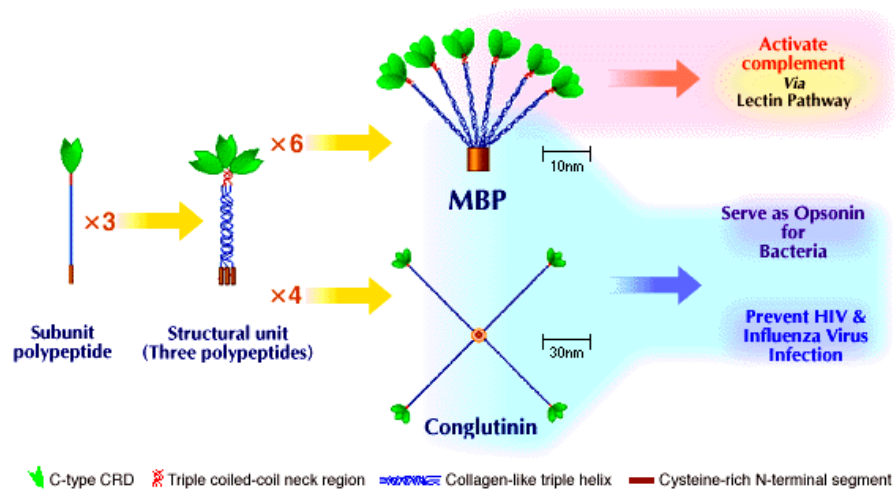
La meticilina se introdujo en el arsenal terapéutico contra *S. aureus* en 1961, como la primera penicilina resistente a penicilinas. Su introducción fue rápidamente seguida por reportes de cepas resistentes a meticilina; el primer reporte de MRSA en un hospital británico data de 1961(25). Su distribución geográfica es muy variable, de tal forma que en Japón ha llegado a suponer el 60% de los aislamientos de *S. aureus*, mientras que en países del norte de Europa apenas suponen un 1-2 %. La atención que se presta a MRSA no sólo radica en su resistencia intrínseca a penicilinas y cefalosporinas, sino en su mayor patrón de resistencia a otros antimicrobianos y en su facilidad de transmisión, que obliga a tomar medidas de control. El porcentaje de cepas resistentes a meticilina ha pasado de un 15 a un 45% y casi un aumento de 20 veces más de *S. aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad (AC-MRSA)(24). En 1996 se reportó en Japón el primer aislamiento de *S. aureus* con resistencia intermedia a los glicopéptidos y hasta la fecha se han detectado distintos casos clínicos repartidos en diferentes países (Japón, EEUU, Corea, China y otros).El último peldaño de la escalera de resistencias que presenta *S. aureus* está en el reporte de la primera cepa con resistencia total a vancomicina que se aisló en EEUU en junio de 2002 (28,29,30,31).

1.4 Relación de Lectina Fijadora de Manosa (MBL) e infecciones por *S. aureus*

Una función básica de la inmunidad innata es la restricción de la rápida proliferación de agentes infecciosos. Numerosas moléculas y células efectoras colaboran para restringir la expansión de un foco infeccioso. Algunos ejemplos de la primera línea de moléculas de defensa incluyen los péptidos antimicrobianos, anticuerpos naturales, proteínas del complemento, proteínas fijadoras de lipopolisacáridos, receptores solubles y **colectinas**. Las colectinas son una familia de proteínas compuestas de estructuras de colágeno con dominios que reconocen carbohidratos tipo C (lectinas de colágeno tipo C), las cuales hacen parte de la inmunidad innata de los vertebrados. En el humano la primera colectina caracterizada fue la lectina fijadora de manosa (**MBL**).

Estas son ensambladas como oligómeros de subunidades triméricas, cada subunidad esta compuesta de tres polipéptidos idénticos, con excepción de SP-A. Las subunidades se unen ya sea covalentemente por medio de puentes disulfuro o no covalente, en oligómeros de hasta 6 unidades. Cada subunidad consiste de un dominio amino terminal que posee dos residuos de cisteína para entrecruzamiento por puentes de disulfuro (Dominio N), un dominio de tripe hélice de colágeno (Dominio C), un dominio corto de unión en espiral (Dominio L) y un dominio CRD (Reconocimiento de Carbohidratos). Estos dominios CRD son los responsables de la actividad lectina de las colectinas y por lo tanto son los que van a interactuar con la manosa de los microorganismos. Para una unión de alta afinidad son necesarias y suficientes agrupaciones de trímeros de CRD (Figura 4).

Figura 4: estructura molecular y actividades biológicas de las colectinas



Las colectinas tienen capacidad de interactuar con moléculas de azúcares que presentan una ubicación ecuatorial de grupos 3- y 4-OH, tales como D-manosa, D-glucosa, D-manosamina N-acetilada y D-glucosamina, también pueden unir a L-fucosa probablemente por medio de grupos 2- y 3-OH. A pesar de esta capacidad de unión con diferentes estructuras de carbohidratos, se evidencian preferencias por ciertos azúcares. Esta selectividad diferencial es consistente con la actividad antimicrobiana innata de las colectinas, pues ellas deben reaccionar con las distintas moléculas de carbohidratos que se encuentran en un gran número de microorganismos patógenos y al mismo tiempo no deben reaccionar con los carbohidratos endógenos que normalmente se encuentran en las células del hospedero, que entre otras propiedades, es la que ha permitido su conservación a lo largo de la evolución de las especies. De otro lado, las colectinas interactúan con las células del hospedero gracias al denominado receptor de colectinas, el cual es el mismo receptor para la proteína C1q del complemento, que se encuentra en leucocitos, plaquetas, células endoteliales, fibroblastos y epitelios especializados tales como las células alveolares tipo II.

Las colectinas cumplen su función biológica por medio de la intersección de sus dominios de lectina con los carbohidratos de los microorganismos, de manera que permitan que estos sean reconocidos por células del sistema inmune o por el complemento. La MBL inicia la cascada del complemento por la vía independiente de anticuerpos y de C1q. Requiere de la presencia de un complejo de proteasas de serina asociadas a MBL denominadas MASP. Existen tres tipos de MASP (MASP-1, MASP-2, MASP-3), donde el complejo de MBL –MASP-2 y MASP-1 es capaz de clivar C4 y C2 lo que resulta en la generación del complejo C4b2a que va a funcionar como una C3 convertasa con una amplificación en el clivaje de C3 y producción de C3b/iC3b. Este último complejo asegura la opsonofagocitosis del microorganismo por medio de sus receptores CR1 para C3b y CR3 y CR4 para iC3b, los cuales están distribuidos ampliamente en las células del sistema inmune. Estudios demuestran que además este complejo MBL- MASP es capaz de potenciar la activación del complemento por otras vías.

La MBL es una de las principales moléculas reguladoras del sistema de complemento lo que la convierte en una pieza clave en la defensa inicial de microorganismos susceptibles de reconocer como es el caso del *S. aureus* (32).

Los niveles séricos de la MBL van a depender de su regulación genómica con alteraciones en el gen estructural o en su promotor. En el hombre, el gen que codifica la

MBL, se encuentra en el cromosoma 10. Se han identificado mutaciones estructurales en el exon 1 de este gen a nivel de los codones 52, 54 y 57 (Glyc54Arg, Gly57Glu, Cys52Arg) llamados variantes D, B y C respectivamente, las cuales interfieren en la oligomerización de la proteína donde se rompe la hélice de colágeno dando lugar a la deficiencia en la producción y función de la MBL. También se han descrito tres polimorfismos a nivel del promotor y de la región 5' H/L, X/Y y P/Q, en las posiciones -550, -221 y +4 respectivamente, las cuales se expresan en diferentes haplotipos LYPB, HYPD, LYQC junto a otros cuatro haplotipos de la variante A, que son LYPA, HYPA, LYQA y LXPA. Los polimorfismos LYPB, LYQC, HYPD y LXPA están asociados a niveles bajos de MBL en suero (33).

Cada una de las variantes ha sido encontrada en un tipo poblacional específico, es así, como se ha identificado que la variante B es altamente frecuente en la población Euroasiática y en América, mientras que la variante C es en poblaciones subsaharianas; esta distribución se explica por fenómenos migracionales. Tanto las variantes B y C son de aparición más reciente y de mayor distribución en poblaciones del trópico probablemente por presiones evolutivas que le confieren a esta población cierta protección contra microorganismos intracelulares como leishmaniasis y mycobacterias, así como también les protege de daños generados por activación del complemento (34), pero por otro lado los vuelve más susceptibles a infecciones extracelulares.

La idea que la carencia relativa de MBL predispone al hospedero a la infección fue basada en la descripción de los defectos de opsonización dependientes de MBL en el suero de pacientes con fenotipo de infección recurrente desde los años 60's.

Se ha demostrado en estudios que gérmenes como *Candida sp*, *Aspergillus fumigatus*, *S. aureus* y Estreptococo beta hemolítico del grupo A muestran fuerte afinidad por la MBL, en contraste con gérmenes como el Estreptococo beta hemolítico del grupo B, *S. pneumoniae*, *S. epidermidis* los cuales mostraron baja unión. Otras bacterias gram negativas como la *Escherichia coli*, *klebsiella sp* y algunas cepas de *Haemophilus influenzae* tipo B muestran un patrón heterogéneo de unión a MBL. Además de encontrar diferentes patrones de unión entre los diferentes gérmenes, también se encuentra variación entre cepas de una misma especie bacteriana lo que hace más complejo su análisis respecto al riesgo de adquirir infección o conocer cual es el nivel protector de la MBL para los diferentes patógenos

Estas diferencias en patrones de unión a la MBL puede ser explicado por el hecho de que algunas otras estructuras como son los polisacáridos capsulares (ej. *N .meningitidis* serogrupo B, *H.influenzae* , *C. Neoformans*) o endotoxinas pueden enmascarar o competir con la manosa o a la N-acetilglucosamina o alterar la estructura de estos carbohidratos y así, alterar su unión a la MBL.

Estudios en población de caucásicos británicos libres de mutaciones para MBL muestran una alta unión del *S. aureus* a la MBL, a concentraciones de 1,63 mcg/ml (concentraciones promedio en dicha población). Sin embargo, cuando las concentraciones de MBL bajan a 0.358 mcg/mml en población heterocigótica para mutación en el codón 54 o codón 52 (0.6 mcg/ml) dicha unión es mínima o casi nula, lo que explica la predisposición a infecciones severas por éste germen en poblaciones con deficiencia de MBL. Este riesgo empeora en poblaciones homocigóticas para mutaciones en el gen estructural de la MBL. (34).

2. METODOLOGÍA

2.1 Diseño metodológico:

Este es un estudio prospectivo de casos.

2.2 Población y muestra

Se analizó un total de 11 pacientes entre todos los niños en edades de 0 mes a 13 años procedentes de la región del sur colombiano, atendidos en el Hospital Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva – Huila, que presentaron criterios de sepsis en las primeras 48 horas y con hemocultivos positivos para *S. aureus*, en el periodo de tiempo comprendido entre el 1 de Noviembre de 2.004 y el 31 de Junio de 2.005.

Se excluyeron los pacientes con malformaciones congénitas, con inmunodeficiencia primaria conocida, con infección por VIH, con tratamiento inmunosupresor últimos 3 meses y con cáncer.

2.3 Variables utilizadas

Los criterios de sepsis:

Uno de los siguientes:

- Fiebre > 38 C o temperatura menor de 36C
 - Leucocitosis > a 12000 o leucopenia < 4000 con cayados del 10% o más.
 - Taquicardia > P50 para la edad
 - Taquipnea mayor al percentil 50 para la edad o PCO2 menor de 32 mmHg
- más:

* Foco infeccioso comprobado.

El aislamiento de *S. aureus* por medios de cultivo marca BactAlert el cual se incubaba a 37° C durante 24 a 36 horas en incubadora BactAlert , posteriormente los cultivos se pasan a medio agar sangre por 24 horas. Los cultivos positivos para gram positivos se pasan a la Placa Vitek (BioMérieux Lab. Equipment) la cual dará la **sensibilidad antibiótica**.

La estancia hospitalaria total, estancia en Unidad de Cuidados Intensivos pediátricos y en sala de infectología, para ayudar a determinar el grado de severidad del cuadro.

También se tuvo en cuenta **la edad y el sexo** al cual pertenecían los pacientes, **procedencia** y en lo posible **grupo étnico**.

2.4 Procedimientos y técnicas de recolección de datos

Se recolectaron los datos hallados en la Historia Clínica con respecto a edad, sexo, procedencia y etnia.

Durante la estancia hospitalaria se tomaron las muestras para medición de niveles séricos de MBL a pacientes cuyos hemocultivos fueron positivos para *S. aureus*, previo consentimiento informado a los padres. A todos los pacientes se les calculó la escala predictora de mortalidad PIM a la primera hora de su ingreso a la Institución. (Anexo 2)(45). Se realizó seguimiento para determinar mortalidad con un punto de corte a los 28 días del ingreso.

También a través de la Historia Clínica se hizo el recuento de días de estancia hospitalaria tanto en UCIP (Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos) como en salas de infectología.

Se realizó seguimiento para determinar mortalidad con un punto de corte a los 28 días del ingreso.

En no todos los pacientes con cuadro clínico compatible con sepsis por *Staphylococcus* fué posible comprobarlo debido a que en ocasiones hubo deficiencia de medios de cultivo para realizar el estudio correspondiente lo cual hace que el tamaño muestra pueda ser menor a lo esperado. De igual manera, la población en estudio, hubiera podido ser mayor, tomando en cuenta que existe un grupo de 7 pacientes que cumplieron con todos los requisitos para ingresar al estudio, incluso cursaron con estancias prolongadas en UCI y presentaron resultados de PIM SCORE muy altos; pero desafortunadamente sus muestras no fueron analizadas para medición de nivel sérico de MBL, debido a un error involuntario del laboratorio de inmunología.

2.5 Técnicas e instrumentos:

Se utilizó el método de Elisa para MBL oligomérica que consisten en hacer reaccionar pozos cubiertos por anticuerpos monoclonales en contra de la parte ligadora de carbohidrato de la MBL. La MBL detectada con el anticuerpo se hace reaccionar con una

peroxidasa que hace las veces del conjugado y se determina los niveles luego de la incubación con un sustrato cromogénico llamado tetramethylbenzina (TMB). La intensidad del color determina la concentración de MBL en cada muestra.

Paso1. Las muestras, calibradores y controles son incubadas en los pozos previamente cubiertos con anticuerpo monoclonal contra MBL. La MBL así presente en las muestras se unirá al anticuerpo por medio de su dominio ligador de carbohidrato. El material restante es removido mediante lavados.

Paso2. Incubación de los pozos con el anticuerpo monoclonal marcado con biotina. Se realiza lavado para descartar material que no se haya unido al anticuerpo marcado.

Paso 3. Se adiciona el conjugado de Streptavidina HRP (horseradish peroxidasa) para formar un complejo con el anticuerpo marcado con biotina. el conjugado restante es removido mediante lavado.

Paso 4. Un sustrato cromogénico de peroxidasa que contiene tetrametilbenzidina (TMB) se agrega a cada pozo. La Streptavidina reacciona con el sustrato generando color. La reacción enzimática se detiene con una solución stop. La intensidad de color se lee en lector para Elisa a una longitud de onda de 450 nm.

Recolección de la muestra:

Se requiere de la toma de 1 a 2 cc de sangre, para obtener de 5 – 50 ul de suero. La muestra fué tomada de manera aséptica por personal capacitado, por método de venoyet en tubo seco sin anticoagulante. Luego se llevó al laboratorio donde la muestra es centrifugada para obtener el suero. Este se almacena a –20 °C. Las muestras hemolisadas o lipémicas se descartaron.

Interpretación de los resultados:

El rango total de concentraciones de MBL en suero de pacientes sanos medido por este método u otros similares esta entre 1000 a 7000 ng/ml.

Estudios clínicos han tomado como valores de corte 1000 ng/ml para definir niveles bajos de MBL.

Se correlacionó el número de pacientes con sepsis severa por *S. aureus* y aquellos que tengan valores de MBL por debajo de 1000ng/ml realizándose análisis estadístico de los datos.

Se correlacionó aquellos pacientes con valores de MBL por debajo de 1000 ng/ml y por encima de este valor con el puntaje de PIM Score obtenido.

3. RESULTADOS

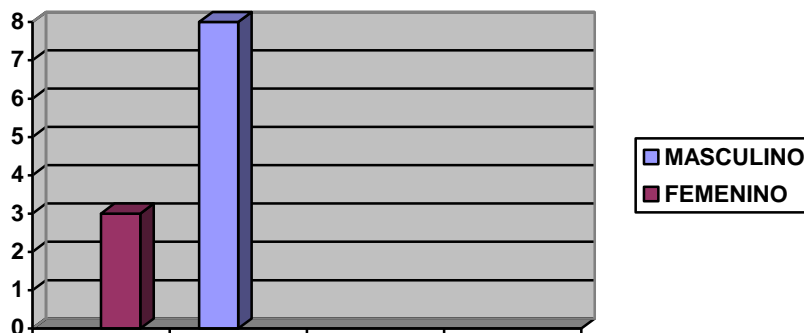
Los datos obtenidos al hacer la medición del nivel sérico de Lectina Fijadora de Manosa (MBL) y otras variables necesarias para la realización de este estudio están detalladas en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados y variables de estudio de relación MBL y S. aureus.

EDAD	SEXO	ESTANCIA HOSPITALARIA			MUERTE 28 DIAS	GERMEN	B. LACTAMASA	PIM	MBL ng/ml
		UCIP	INFECTO	TOTAL					
1A	M	(-)	11 días	11 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	9,80%	3640
9A	M	30 días	20 días	50 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	50,70%	120
15 M	F	5 días	13 días	18 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	38,30%	3630
2A	F	(-)	14 días	14 días	(-)	S. Aureus		7,50%	3060
18 M	M	21 días	2 días	23 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	33,30%	221
2A	F	(-)	24 días	24 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	47,90%	3590
5 D	M	36 días	(-)	36 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	52,20%	790
5 M	M	(-)	25 días	25 días	(-)	S. Aureus	(-)	51,60%	1130
4A	M	11 días	19 días	30 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	80,90%	180
11A	M	6 días	16 días	22 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	42,80%	3580
8A	M	6 días	17 días	23 días	(-)	S. Aureus	POS (+)	49,50%	1340

El tamaño total de la muestra es de 11 pacientes de los cuales 8 (72,7%) son de sexo masculino y 3 (27,3%) son de sexo femenino.

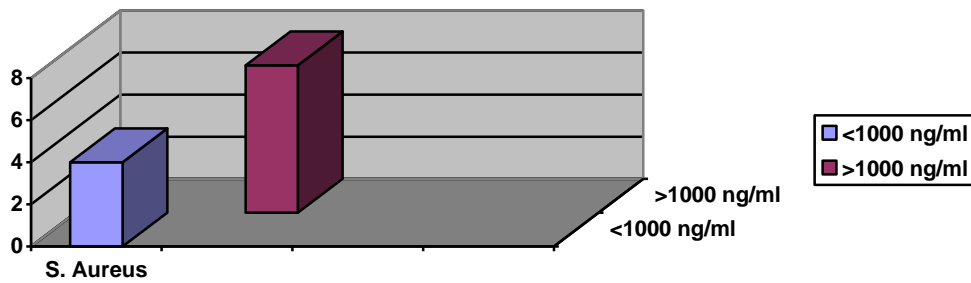
Gráfica 2. Distribución por sexo



El rango de edad fue de 0 meses a 11 años con un promedio de 3,5 años.

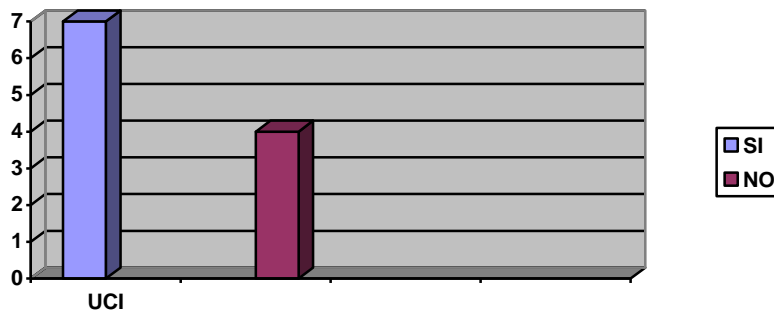
4 de 11 pacientes con infección por S. aureus (36,3%), presentaron nivel sérico de MBL, por debajo del límite inferior del rango normal. Mientras que 7 de ellos (63,7%), presentaron nivel sérico de MBL dentro del rango normal.

Gráfica 3. Relación entre nivel de MBL e infección por S. aureus.



4 de 11 pacientes con infección por S. aureus (36,3%), no requirió ingreso a UCI para su manejo hospitalario. Mientras que 7 de 11 pacientes con infección por S. aureus (63,7%), debido a su condición clínica necesitó ser admitido a UCI para su manejo hospitalario.

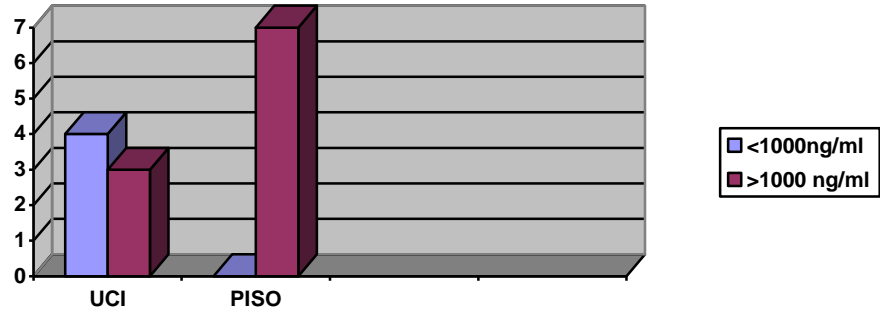
Gráfica 4. Infección por S. aureus e ingreso a UCI



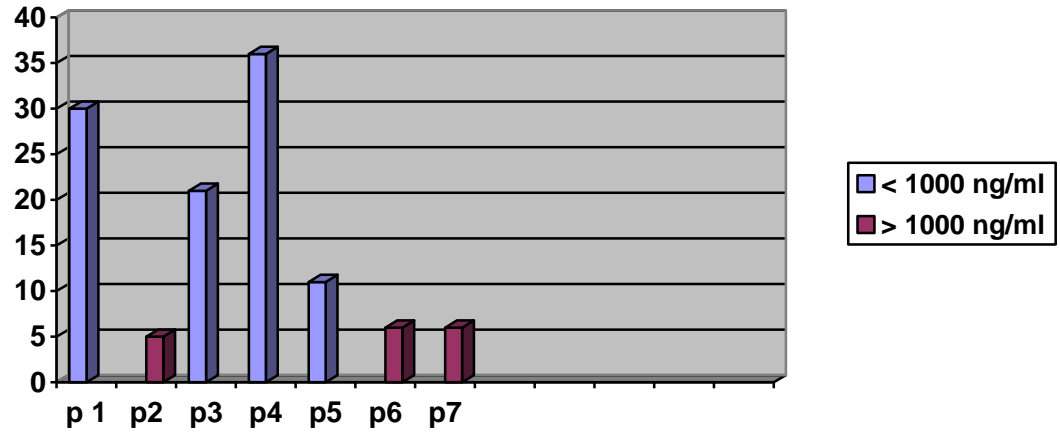
De los 4 pacientes que no requirieron ingreso a UCI, 4 pacientes (100%), tenían nivel sérico de MBL dentro del rango normal.

De los 7 pacientes que requirieron ingreso a UCI, 4 pacientes (57,1%), tenían nivel sérico de MBL por debajo del límite inferior del rango normal; y en este subgrupo, la estancia promedio en UCI fue de 24, 5 días. En este mismo grupo de 7 pacientes que necesitaron ingreso a UCI, 3 pacientes (42,8%), tenían nivel sérico de MBL dentro del rango normal; y en este subgrupo, la estancia promedio en UCI fue de 5,6 días.

Gráfica 5. Niveles de MBL y necesidad de UCI o piso.

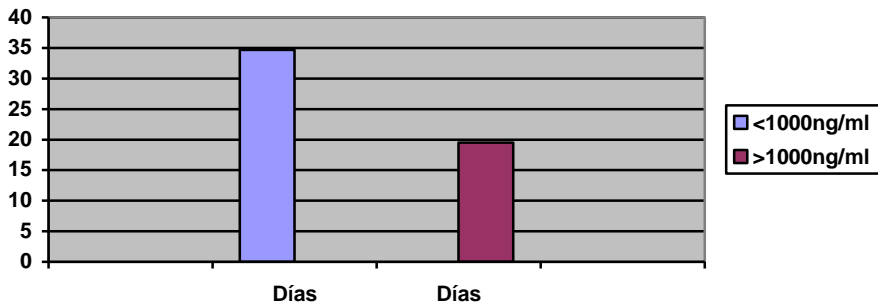


Gráfica 6. Niveles de MBL y días de estancia en UCI



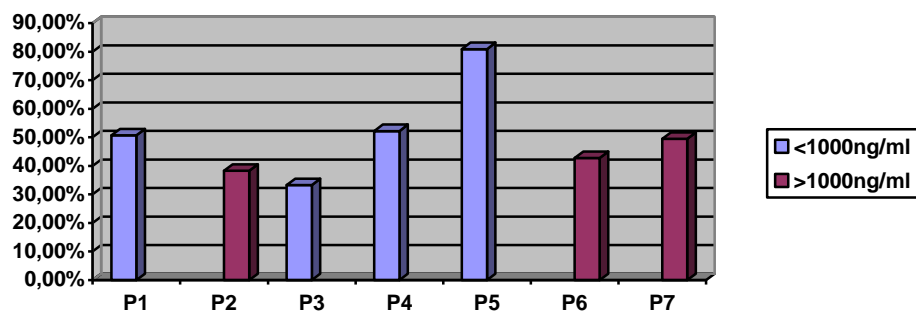
En el grupo de muestra, la estancia hospitalaria total, entendida como la sumatoria de la estancia en UCI y en sala de infectología, fue promedio de 25,6 días. En el subgrupo de pacientes con nivel sérico de MBL dentro del rango normal, el promedio fue de 19,5 días. Mientras que en el subgrupo de pacientes con nivel sérico de MBL por debajo del límite inferior del rango normal, el promedio fue de 34,7 días.

Gráfica 7. MBL y estancia hospitalaria.



Referente al PIM SCORE, se aclara que al ser una escala de aplicación exclusiva al ingreso a la sala de UCI, no se pudo aplicar en los 4 pacientes que no necesitaron ser admitidos en UCI para su manejo hospitalario. Por lo tanto, quedó un total de 7 pacientes para aplicarles esta escala. En el total de 7 pacientes admitidos a UCI, el promedio de PIM SCORE fue de 49,6%. Dentro del subgrupo de 3 pacientes que necesitaron UCI y cuyo valor sérico de MBL estaba dentro del rango normal, el promedio de PIM SCORE fue de 43,5%. Mientras que en el subgrupo de 4 pacientes que requirieron UCI y cuyo valor sérico de MBL estaba por debajo del límite inferior del rango normal, el promedio de PIM SCORE fue de 54,2%.

Gráfica 8. Nivel de MBL y PIM SCORE



Para analizar la sensibilidad del germen aislado, se realizó prueba para eritromicina, clindamicina, oxacilina y vancomicina, al igual que la producción de beta lactamasa. Anotando como primera medida, que para 1 paciente, el reporte de hemocultivo del laboratorio no incluyó, las pruebas de sensibilidad arriba descritas; por lo tanto el universo total para las pruebas de sensibilidad es de 10 pacientes. El resultado es el siguiente:

9 pacientes (90%), con cepas productoras de beta lactamasa y 1 paciente (10%), con cepas no productoras de beta lactamasa.

8 pacientes (80%), con cepas sensibles a eritromicina y 2 pacientes (20%), con cepas resistentes a eritromicina.

9 pacientes (90%), con cepas sensibles a clindamicina y 1 paciente (10%), con cepas resistentes a clindamicina.

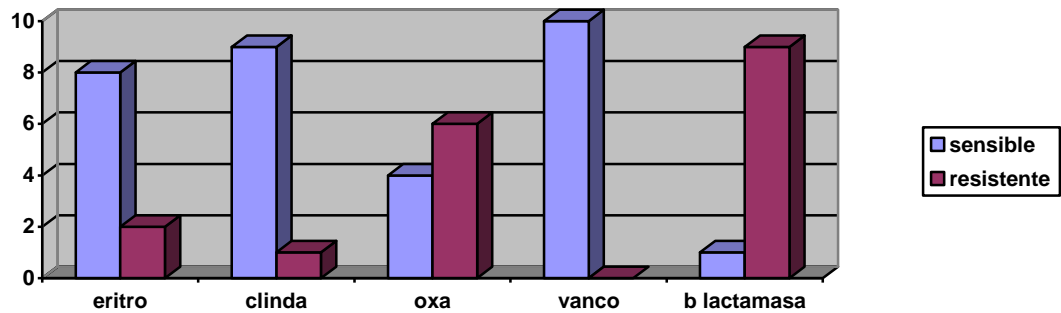
6 pacientes (60%), con cepas resistentes a oxacilina y 4 pacientes (40%), con cepas sensibles a oxacilina.

10 pacientes (100%), con cepas sensibles a vancomicina.

Tabla 3. Sensibilidad del germen aislado.

SENSIBILIDAD				
ERITRO	CLINDA	B LACTAMASA	OXACILINA	VANCO
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	>=8 R	2 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	>=8 R	<= 0,5 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	>=8 R	<= 0,5 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	2 S	<= 0,5 S
>=8 R	<= 0,5 S	POS (+)	2 S	2 S
>=8 R	2 R	POS (+)	>=8 R	1 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	(-)	<=0,25 S	<=0,5 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	2 S	<=0,5 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	>=8 R	<= 0,5 S
<= 0,5 S	<= 0,5 S	POS (+)	>=8 R	<= 0,5 S

Gráfica 9. Sensibilidad del germen aislado



4. DISCUSION

En los once pacientes que conformaron parte del universo total de la muestra se observa que aproximadamente una tercera parte (33.4%) presentaron niveles séricos de MBL por debajo del rango normal (1000 ng/ml).

En la muestra examinada se observa un franco predominio de pacientes de sexo masculino y un rango de edad muy amplio.

Se confirma la severidad de las infecciones por *S. Aureus*; ya que dos terceras partes de la muestra total requirieron debido a su grave condición clínica, ser internados en Unidad de Cuidados Intensivos para asegurar una atención adecuada.

En el presente estudio el total de los pacientes que no requirieron ingresar a UCI, presentó nivel sérico de MBL dentro del rango normal; mientras que más de la mitad de pacientes que requirieron UCI, tuvieron nivel sérico de MBL por debajo del límite inferior, confirmándose de esta manera una fuerte asociación entre el nivel sérico de MBL bajo y una mayor severidad de la infección por *Staphylococcus aureus*.

Tanto la estancia hospitalaria total, como la estancia en UCI fueron ostensiblemente mayores en los pacientes con nivel sérico de MBL bajo; reforzando aún más la relación que existe entre este y la mayor severidad de infecciones por *S. aureus*.

Referente a sensibilidad casi la totalidad de las cepas aisladas fueron productoras de B-lactamasas, con un porcentaje importante (80%-90%) sensibles a eritromicina y clindamicina. Dos terceras partes resistentes a oxacilina y el 100% sensibles a vancomicina, lo cual nos indica la alta posibilidad de enfrentarnos en nuestra región a un *S. aureus* meticilino-resistente de adquisición en la comunidad con las implicaciones de manejo farmacológico que esto acarrea.

5. RECOMENDACIONES

Debido a la importancia del tema y a las implicaciones de índole social, económicas y de salud pública implícitas en el tema de infecciones por *S. aureus*, consideramos este estudio, el paso inicial de otros que deben desarrollarse alrededor del mismo, y que redundaran en beneficios para una mayor y mejor comprensión, atención y manejo de la población pediátrica de nuestra región. Es imprescindible en estudios posteriores, contar con un universo de muestra más amplio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Waldvogel FA . Staphylococcus aureus (including toxic shock syndrome). In: Mendell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas and Bennett s principles and practice of infectius diseases. 4th ed. Vol 2. New York: Churchill Livingstone, 1995: 1754-77.
2. Pediatric Clinics of North America Volume 48 • Number 3 • June 2001
3. Crossley KB, Archer GL, eds. The Staphylococci in human disease. New York.
4. Churchill Livingstone, 1997.Musher DM, Lamm N, Darouiche RO, Young EJ, Hamill RJ, Landon GC. The current spectrum of Staphylococcus Aureus infection in a tertiary care hospital. Medicine (Baltimore) 1994; 73: 186-208.
5. Novick RP. The Staphylococcus as a molecular genetic system. In: Novick RP, ed. Molecular biology of the staphylococci. New york: VHC, 1990: 1-37.
6. Giebrecht P, Kerstent T, Maidhof H, Wecke J. 1998. Staphylococcal cell wall: morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. Microbiol Mol Biol Rev 62:1371-1414.
7. Fischer W. 1994. Lipoteichoic acid and lipids in the membrane of Staphylococcus aureus. Med Microbiol Immunol. (Berlin) 183: 61-76.
8. Fischer W., and H U Koch. 1985. Alanyl Lipoteichoic acid of Staphylococcus aureus: functional and dynamic aspects. Biochem Soc Trans. 13: 984-986.
9. Rose RK, Hogg SD. 1995. Competitive binding of calcium and magnesium to Staphylococcal lipoteichoic acid. Biochim Biophys. Acta 1245: 94-98.
10. Opal SM, Cohen J. 1990. Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram- negative bacterial sepsis ? Crit Care Med. 27: 1608-1616.
11. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P, Fischer W. 1991. Stimulation of monokine production by lipoteichoic acids. Infect Immun. 59: 4614-4620.
12. De Kimpe SM, Hunter ML, Bryant CE, Thiemermann C, Vane JR. 1995. Delayed circulatory failure due to the induction of nitric oxide synthase by lipoteichoic acid from Staphylococcus aureus in anaesthetized rats. Br J Pharmacol. 114: 1317-1323.

13. Mózes TF, Zijistra FJ. Heiligers JPC, Tac CJAM, Efraim I, Bonta L, Saxena PR. 1991. Secuential release of tumour necrosis factor, platelet activating factor and eicosanoids during endotoxin shock in anaesthetized pigs; protective effects of indomethacin. *Br J Pharmacol.* 104: 691-699.
14. Lee JC. The prospects for developing a vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 1996; 4: 162-6.
15. Foster TJ, Mc Devitt C. Surface – associated proteins of *Staphylococcus aureus*: their possible roles on virulence. *FEMS Microbiol Lett* 1994; 118: 199-205.
16. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. MSCRAMM- mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Ann Rev Microbiol* 1994; 48:585-617.
17. Dinges MM, Orwin PM. Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan. 2000 P 16-34.
18. *Lancet Infect Dis.* 2005 May;5(5):275-86.)
19. *J Med Microbiol.* 2004 Oct;53(Pt 10):1045-9)
20. *J Microbiol Immunol Infect.* 2004 Feb;37(1):29-34
21. *Curr Opin Pediatr* 17:67–70. 2005)
22. Emerging diseasesThe Economic Impact of *Staphylococcus aureus* Infection in New York City Hospitals Robert J. Rubin
23. Rammelkamp CH, Maxon T. 1942. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin . *Proc Royal Soc Exper Biol Med.* 51:386-389
24. Chambers HF. 2001.The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.* 7:178-182.
25. Lowy FD. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus* 2003; 111:1265-1273 Jevons MP. 1961. “Celbenin” – resistant staphylococci. *Br Med J.* 1:124-125
26. Couto I et al.1995. Unusually large number of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in portuguese hospital. *J Clin Microbiol.* 33:2032-2035
27. Lyon BR, Iuorio JL, May JW, Skurray RA. 1984. Molecular epidemiology of multiresistan *Staphylococcus aureus* in australians hospitals. *J Med Microbiol.* 17:79-89.
28. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al. Emergence of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus Aureus*; For the Glicopeptide – Intermediate *Staphylococcus*

- Aureus working group. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 340 (7): 493-501
29. Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin Resistance in Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002; 15 (3):430-38
 30. Liu C, Chambers HF. Staphylococcus Aureus with Heterogeneous Resistance to Vancomycin: Epidemiology, Clinical Significance, and critical Assessment of Diagnostic Methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003. 47 (10): 3040-45.
 31. Steenbergen JN, Alder J, Thorne GM, Tally FP. Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious gram-positive infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005 (55), 283-8.
 32. Neth, O. Dominic, J. Jhonson, M. Klein, N. Turner, M. Enhancement of Complement Activation and Opsonophagocytosis by complexes of Mannose-Binding Lectin with Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease after binding to Staphylococcus aureus. *The Journal of Immunology*, 2002, 169: 4430-4436.
 33. Neth, O. Dominic, J. Dodds, Alister. Holzel, H. Klein, N. Turner, M. Mannose-Binding Lectin Binds to a Range of Clinically Relevant Microorganisms and Promotes Complement Deposition. *Infection and Immunity*. Feb 2000, p. 688-693.
 34. Ainsley, M. 2005. Polymorphisms in CD14, mannose- binding lectin , and toll like receptor –2 are associated with increased prevalence of infection in critically ill adults. *Crit care Med* vol. 33 No. 3: 638- 644.

ANEXO 1. PIM SCORE

(Paediatric Index of Mortality) 

Variables	Valores (1 si , 0 otros)	Beta
Admission electiva	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value="0"/>
Condición subyacente	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value="0"/>
Respuesta pupilar (> 3 mm o ambas fijas)	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value="0"/>
Ventilación mecánica (primera hora de ingreso a UCIP)	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value="0"/>
Presión sistólica (mmHg)	<input type="text" value="120"/>	0.021
Base en exceso (mmHg) (arterial o capilar)	<input type="text" value="0"/>	0.071
FiO2 (%) / PaO2 (mmHg)	<input type="text" value="0"/>	0.415

Tasa predictora de muerte

Logit = (-4.873) + (values * Beta) + (0.021 * (absolute(SBP-120))) + (0.071 * (absolute base excess)) + (0.415 * (FiO2/PaO2))

Tasa predictora de muerte = $e^{\text{Logit}} / (1 + e^{\text{Logit}})$

ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESTUDIO DE DEFICIENCIA DE MBL EN NIÑOS CON SEPSIS SEVERA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

El Staphylococcus aureus es una bacteria importante porque puede producir infección en cualquier parte del cuerpo y el porcentaje de complicaciones incluyendo la muerte es alto.

Este es un estudio de es el nivel de MBL que es una sustancia medida en sangre que pueden influir para que su hijo/hija sufra infección por esta bacteria.

Se requiere tomar una muestra de sangre que servirá para medir esta sustancia que tiene que ver con la defensa contra esta bacteria. Toda la información y las muestras sólo serán utilizadas con los fines de este estudio y no se dará nombre propio alguno.

La toma de la muestra no conlleva ningún riesgo agregado ni el estudio intervendrá en el tratamiento de su niño. En caso de que no acepte pertenecer al estudio, de igual forma recibirá el tratamiento adecuado. Si usted decide retirar al paciente, puede hacerlo en cualquier momento.

Con este estudio usted contribuirá a estudiar esta patología para en un futuro poder ofrecerles nuevas opciones de tratamiento.

Yo, _____ identificado con cedula de ciudadanía-----
como persona acudiente del paciente _____ acepto que lo incluyan en
el estudio y que he tenido claridad de los objetivos y de las consecuencias de el estudio.

Fecha _____