

Eficacia de algunos biocidas contra estafilococos hospitalarios sensibles y resistentes a la meticilina en la provincia de Buenos Aires, Argentina

Mirta Beatriz Reynaldo,¹ Mónica Beatriz Flores,^{2,3} José Alberto Viegas Caetano⁴
y María del Carmen Magariños³

Forma de citar

Reynaldo MB, Flores MB, Viegas Caetano JA, Magariños MC. Eficacia de algunos biocidas contra estafilococos hospitalarios sensibles y resistentes a la meticilina en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev Panam Salud Publica. 2004;16(3):187-92.

RESUMEN

Objetivos. *Evaluar cómo responden los estafilococos hospitalarios sensibles y resistentes a la meticilina ante la acción de diferentes antisépticos y desinfectantes empleados habitualmente en los hospitales de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Demostrar la eficacia de esas sustancias mediante la determinación de sus concentraciones bactericidas eficaces, así como analizar si existe correlación entre la resistencia a biocidas y la resistencia a la meticilina en esta población bacteriana.*

Métodos. *Se evaluó la acción de siete biocidas con 25 cepas de estafilococos nosocomiales sensibles y resistentes a la meticilina y una cepa de colección, Staphylococcus aureus ATCC 6538. Las cepas hospitalarias provienen de dos hospitales de máxima complejidad y fueron obtenidas, durante los meses de abril de 2000 a mayo de 2002, de muestras clínicas (hemocultivo, urocultivo, punta de catéter y absceso) pertenecientes a pacientes de ambos sexos, internados y ambulatorios. Después del aislamiento de dichas cepas, determinamos la sensibilidad a antibióticos mediante el método de difusión en agar de Kirby y Bauer. Para estudiar la acción de los biocidas de uso hospitalario sobre estas cepas, empleamos el ensayo de Kelsey-Sykes, que permite establecer las concentraciones bactericidas eficaces de tales compuestos.*

Resultados. *Los resultados muestran que la respuesta de las cepas hospitalarias resistentes y sensibles a la meticilina varía con respecto a la cepa de colección. El digluconato de clorhexidina, la yodopovidona, la tintura de yodo débil y el glutaraldehído alcalino fueron eficaces contra la mayoría de las cepas, independientemente de su resistencia o sensibilidad a los antibióticos.*

Conclusiones. *Estas evaluaciones no indican ninguna asociación entre la resistencia a la meticilina y la resistencia a los biocidas evaluados. Asimismo, apuntan a la necesidad de seguir investigando para valorar la eficacia de los agentes químicos contra los microorganismos que han sido expuestos a antibióticos.*

Palabras clave

Staphylococcus, meticilina, biocida, germicida.

¹ Comisión de Investigaciones Científicas de Provincia de Buenos Aires, La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

² Hospital Interzonal Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica", La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

³ Cátedra de Higiene y Salud Pública, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La

Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina. La correspondencia debe dirigirse a: Cátedra de Higiene y Salud Pública, División Farmacia, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Calles 47 y 115 s/n, (1900) La Plata, Provincia de

Buenos Aires, Argentina; teléfono: (54) 221-423-5333 int. 39; fax: (54) 221-422-3409; Correo electrónico: magariño@biol.unlp.edu.ar

⁴ Hospital Interzonal General de Agudos "General José de San Martín", La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

La mayor parte de las infecciones hospitalarias son causadas por bacterias. Con el fin de lograr su erradicación se emplean antibióticos, y estos muchas veces provocan cambios genéticos y procesos adaptativos a los nuevos ambientes químicos. Es así como aquellos microorganismos susceptibles a las nuevas terapias antimicrobianas se tornan resistentes y generan problemas sanitarios. Entre los microorganismos comúnmente implicados en las infecciones nosocomiales se encuentran los del género *Staphylococcus*, cuyos miembros provocan cuadros clínicos de diversa gravedad. Más del 95% de los pacientes del mundo con infecciones por *S. aureus* no responden al tratamiento con antibióticos de primera línea, y las cepas resistentes a la meticilina (SARM) comúnmente aisladas son endémicas en muchos hospitales y epidémicas en otros (1, 2). Según Fridkin y Gaynes (3), el examen de los porcentajes de resistencia de los SARM y de *Staphylococcus* coagulasa negativos resistentes a la meticilina evidencia un aumento en la tendencia respecto de la década pasada.

Pero además de los antibióticos existen otros compuestos químicos, los desinfectantes y antisépticos, que son igualmente importantes y eficaces para el control de las infecciones y la reducción de las tasas de incidencia hospitalarias. La pared celular de los estafilococos no parece actuar como barrera eficaz al ingreso de los antisépticos y desinfectantes, dado que algunas sustancias de alto peso molecular pueden atravesar sus paredes. Sin embargo, la plasticidad de la envoltura bacteriana puede alterar la sensibilidad a los biocidas al modificarse el espesor y el grado de entrecruzamiento del peptidoglucano (4). Estos compuestos tienen diferentes modos de acción y su empleo genera inconvenientes, porque las concentraciones de uso recomendadas no son eficaces y muchas veces no se tiene en cuenta dónde, cómo y contra qué agentes se emplean. Podría especularse que con el uso continuo de los antisépticos y desinfectantes se seleccionan cepas, tal como ha ocurrido con los antibióticos.

Con el fin de identificar microorganismos hospitalarios del género *Staph-*

lococcus sensibles y resistentes a la meticilina, se estudió su respuesta frente a la acción de siete biocidas utilizados en dos hospitales de máxima complejidad de la Provincia de Buenos Aires, Argentina, mediante una metodología específica que permitió establecer la eficacia bactericida de los germicidas ensayados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se determinó la concentración bactericida eficaz de varios biocidas de uso corriente: hipoclorito de sodio comercial (55 g/L) (Ayudín, Aldo Bonzi, Prov. de Buenos Aires, Argentina), yodopovidona al 10% (Pervinox, Buenos Aires, Argentina), tintura de yodo débil (Farmacopea Nacional Argentina VI) (5), p-cloro-meta-xilenol al 4,8% (Espadol, Florencio Varela, Prov. de Buenos Aires, Argentina), cloruro de benzalconio al 10% (Laprida, Ciudad

de Buenos Aires, Argentina), diglucanato de clorhexidina al 20% (Schütz & Co., Alemania) y glutaraldehído alcalino al 2% (Bacon S.A.I.C., Villa Martelli, Prov. de Buenos Aires, Argentina). Su actividad bactericida fue probada frente a la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y 25 estafilococos hospitalarios, con el ensayo de Kelsey-Sykes (6, 7). Las cepas sensibles y resistentes a la meticilina pertenecen a las especies *aureus*, *haemolyticus* y *saprophyticus*, y proceden de muestras clínicas (urocultivo, hemocultivo, punta de catéter y absceso submaxilar) obtenidas durante los meses de abril de 2000 a mayo de 2002 de pacientes internados o ambulatorios de ambos sexos (cuadro 1). Los aislamientos seleccionados provienen de dos hospitales de la Provincia de Buenos Aires, Argentina (Hospital Interzonal Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica" y Hospital Interzonal General de Agudos "General José de San Mar-

CUADRO 1. Identificación y procedencia de las cepas de *Staphylococcus* spp. obtenidas, durante el 2000 al 2002, de pacientes en dos hospitales generales en la Provincia de Buenos Aires, Argentina

Identificación	Muestra clínica	Edad (años)	Sexo ^a	Servicio
<i>S. aureus</i>	Punta de catéter	50	M	UTI ^b
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	72	F	UTI
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	45	F	Ortopedia
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	27	M	Clínica médica
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	38	M	Traumatología
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	63	M	Neurología
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	55	F	Clínica médica
<i>S. haemolyticus</i>	Punta de catéter	57	M	UTI
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	42	M	UTO ^c
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	54	M	CETUS ^d
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	55	F	Nefrología
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	37	M	UTI
<i>S. haemolyticus</i>	Urocultivo	56	M	Nefrología
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	33	F	Rehabilitación
<i>S. saprophyticus</i>	Urocultivo	27	F	Obstetricia
<i>S. aureus</i>	Absceso submaxilar	63	M	Clínica médica
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	10	M	Neonatología
<i>S. aureus</i>	Hemocultivo	47	M	Clínica médica
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	16	F	Obstetricia
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	62	M	Urología
<i>S. saprophyticus</i>	Urocultivo	35	F	Obstetricia
<i>S. saprophyticus</i>	Urocultivo	24	F	Obstetricia
<i>S. aureus</i>	Urocultivo	57	M	UTO
<i>S. saprophyticus</i>	Urocultivo	47	M	CETUS
<i>S. haemolyticus</i>	Urocultivo	57	M	Nefrología

^a F = Femenino, M = Masculino.

^b UTI = Unidad de terapia intensiva.

^c UTR = Unidad de trasplantes renales.

^d CETUS = Centro de Estudios de Enfermedades Sangrantes.

tin", ambos en La Plata), clasificados por el Ministerio de Salud provincial como de máxima complejidad (perfil D). Estos centros de salud brindan cobertura tanto a los pacientes de los 13 partidos provinciales, como a los de partidos limítrofes a la Región Sanitaria. También reciben pacientes derivados de otras regiones de la provincia y del resto del país, principalmente por padecer enfermedades específicas (oncológicas o neurológicas, quemaduras, o politraumatismos).

Los aislamientos clínicos fueron identificados por tinción de Gram y pruebas bioquímicas con un estuche de identificación (API Staph, Bio Mérieux, Marcy-l'Étoile, Francia). Se determinó la sensibilidad a la meticilina mediante la técnica de difusión en agar de Müller Hilton (Biokar, Beauvais, Francia) con discos según Kirby y Bauer (8), de acuerdo a las normas del *National Committee for Clinical and Laboratory Standards* (9). La sensibilidad o resistencia a la oxacilina se investigó de igual manera, analizando además la resistencia acompañante y confirmando el resultado con una prueba de cribado en placa de oxacilina con 6 µg/mL. En el caso de *Staphylococcus saprophyticus* se tuvo en cuenta el mismo punto de

corte de oxacilina que se usó para los demás estafilococos coagulasa negativos (10). Las cepas fueron conservadas después de su aislamiento en agar nutritivo al 7 por mil.

Para el desarrollo del ensayo de Kelsey-Sykes, los microorganismos se cultivaron durante 18 horas en agar con triptona de caseína y soja (ATS, Merck, Buenos Aires, Argentina). Se prepararon suspensiones bacterianas de $2,7 \times 10^8$ ufc/mL y con 1 mL de las mismas se efectuaron tres inoculaciones sucesivas a tres concentraciones crecientes de los biocidas a los 0, 10 y 20 minutos, en agua destilada como medio de dilución. A partir de cada concentración se tomó 1 mL y se sembraron 5 gotas a los 8 minutos, después de cada inoculación, en cajas de Petri con ATS y los neutralizantes correspondientes, y los cultivos se incubaron a 35–37 °C durante 48 horas. Se estableció como concentración bactericida eficaz aquella que permitió el desarrollo de no más de 5 ufc/placa, después de la segunda inoculación.

Con el propósito de prevenir la acción residual de los biocidas se emplearon antagonistas específicos. Los compuestos halogenados fueron neutralizados con tiosulfato de sodio al

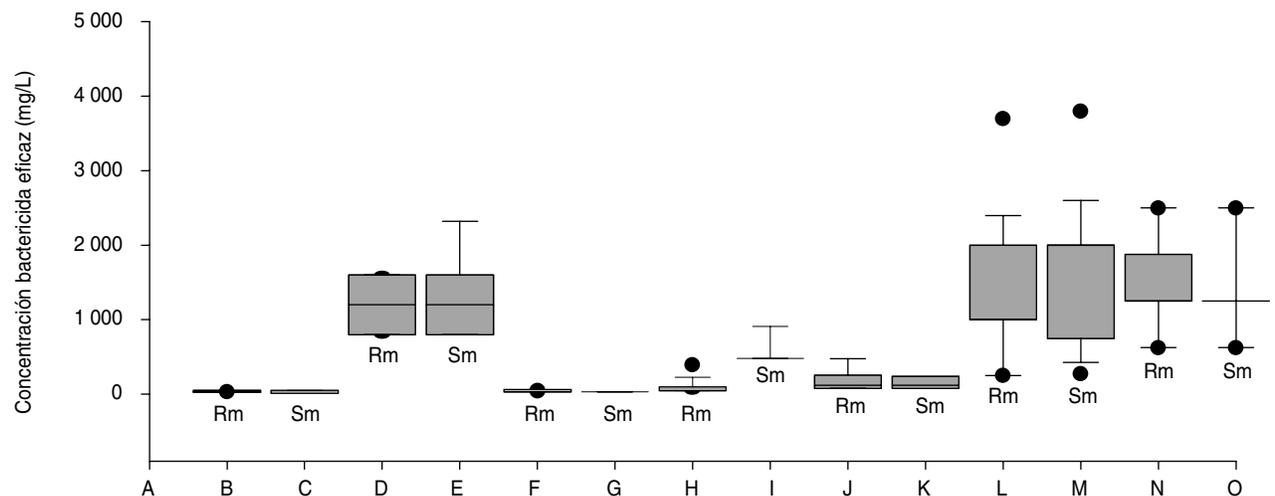
0,05% (Merck), el derivado fenólico lo fue por dilución, el amonio cuaternario con Tween 80 al 3% (Anebra, San Fernando, Provincia de Buenos Aires, Argentina), y la bisguanidina con una mezcla de Tween 80 al 2% y tiosulfato de sodio al 0,5%. El aldehído se neutralizó con una mezcla de Tween 80 al 2% y glicina al 1% (Merck).

Los resultados obtenidos con las distintas concentraciones se compararon estadísticamente mediante las pruebas de Wilcoxon y Mann-Whitney, calculándose la significación estadística (*P*) para dos colas entre las cepas SARM y las sensibles a la meticilina (SASM) y entre cada uno de estos grupos con respecto a la cepa de referencia. Además se determinaron los intervalos de confianza del 95%. A tal efecto, en los resultados se indica la significación estadística seguida de los valores correspondientes a la media y el intervalo de confianza.

RESULTADOS

Para establecer cómo responden las *Staphylococcus* spp. ante la acción de los siete agentes químicos estudiados (figura 1), se comparó la respuesta entre

FIGURA 1. Eficacia antimicrobiana de diferentes biocidas contra cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas entre abril de 2000 y mayo de 2002 de muestras clínicas obtenidas de pacientes en dos hospitales generales en la provincia de Buenos Aires, Argentina



Rm: resistentes a la meticilina, Sm: sensibles a la meticilina.

B-C: hipoclorito de sodio, D-E: tintura de yodo débil, F-G: yodopovidona, H-I: p-cloro-meta-xilenol, J-K: cloruro de benzalconio, L-M: digluconato de clorhexidina, N-O: glutaraldehído alcalino.

la cepa de colección y las SARM y SASM, así como también entre las cepas sensibles y no susceptibles a cada biocida de forma individual. Los resultados para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 revelaron diferencias estadísticamente significativas frente a los de microorganismos hospitalarios resistentes a la meticilina en cuanto al hipoclorito de sodio ($P = 0,0078$; $0,00345 \pm 0,000950$), el p-cloro-meta-xilenol ($P = 0,0020$; $0,0936 \pm 0,00517$) y el cloruro de benzalconio ($P = 0,0313$; $0,0192 \pm 0,0011$). En todos los casos las concentraciones bactericidas fueron muy superiores a la obtenida para la cepa de colección (12,5 mg/L para el hipoclorito de sodio, 240 mg/L para el p-cloro-meta-xilenol, y 40 mg/L para el cloruro de benzalconio). Por otra parte, los aislamientos hospitalarios susceptibles a la meticilina presentaron diferencias estadísticas con el p-cloro-meta-xilenol ($P = 0,0313$; $0,056 \pm 0,00153$), resultando las concentraciones obtenidas el doble de la encontrada con la cepa de referencia (240 mg/L). Asimismo, se destaca que las diferencias significativas encontradas, tanto para los microorganismos sensibles como para los resistentes a la meticilina con la yodopovidona ($P = 0,0156$ y $P = 0,0313$, respectivamente), se deben a que las concentraciones bactericidas eficaces fueron menores que o iguales a la obtenida con la cepa de colección (62,5 mg/L). Sin embargo, al comparar las SARM y las SASM no encontramos diferencias significativas entre las concentraciones bactericidas eficaces con ninguno de los germicidas ensayados.

En las cepas aisladas en los dos hospitales argentinos que hemos estudiado, no hallamos ninguna asociación entre la resistencia a la meticilina y la resistencia a los agentes químicos evaluados. Los microorganismos fueron más susceptibles a la acción del digluconato de clorhexidina al 20%, la yodopovidona al 10%, la tintura de yodo débil, y el glutaraldehído alcalino al 2%. Sin embargo, entre las cepas resistentes a la meticilina, tres mostraron mayor resistencia a los biocidas estudiados. Se trata de dos correspondientes a *S. aureus* —una proveniente de la unidad de trasplantes renales y otra del servicio de traumatología— y una

cepa de *S. saprophyticus* obtenida del servicio de obstetricia. También observamos una mayor resistencia a los biocidas en algunos aislamientos sensibles a la meticilina: una cepa de *S. aureus* procedente de un centro dedicado a las enfermedades hemorrágicas, y otra de *S. haemolyticus* obtenida de un paciente con enfermedad nefrológica.

DISCUSIÓN

Con el uso continuo de compuestos químicos con actividad antimicrobiana se produce un proceso selectivo que suele generar grandes inconvenientes, principalmente en los ambientes hospitalarios. Es así como en los últimos años se ha visto que las bacterias han desarrollado una alta capacidad para adaptarse a los cambios y, a medida que se introducen nuevos antimicrobianos, se generan nuevas resistencias. Esto es preocupante, dado que tanto el control como la erradicación de los microorganismos involucrados en procesos infecciosos se torna sumamente difícil. Como establecieron Rubin et al. en 1999 (1), todo esfuerzo realizado por reducir la incidencia de las infecciones nosocomiales por los SARM y SASM reducirían el impacto económico de estas infecciones en la sociedad. Es entonces necesario establecer cuál es la relación entre la resistencia a los antibióticos y biocidas y cuáles de los biocidas pueden seleccionar resistencia a los antibióticos (11).

Existe mucha información sobre los biocidas más adecuados para erradicar a los microorganismos resistentes a los antibióticos. Sakuragi et al. (12) hallaron una marcada variación individual en la respuesta a la yodopovidona al 10% y al gluconato de clorhexidina con los SARM y SASM, al estudiar seis cepas provenientes de un hospital universitario en el Japón. Por otra parte, otros autores (13) recomiendan la yodopovidona como antiséptico contra las cepas grampositivas altamente resistentes como los SARM, después de analizar aislamientos clínicos obtenidos en hospitales alemanes y aislamientos mutantes provenientes de diversos laboratorios.

Según Reimer et al. (14) la yodopovidona produce la desnaturalización enzimática, por lo que nunca genera resistencia en los microorganismos. Asimismo, Block et al. (15) utilizaron un ensayo de germicidas en superficie y concluyeron que este biocida es muy eficaz contra los SARM y SASM, resultados que coinciden con los hallados en nuestros ensayos.

Con respecto a la eficacia de la clorhexidina, se ha señalado que las cepas de SARM son menos susceptibles que las de SASM después de estudiar cepas provenientes de un centro médico para veteranos durante 4 años (16), mientras que Block et al. (15) indican que el gluconato de clorhexidina tiene igual acción. Otros investigadores han observado que existe un bajo nivel de resistencia mediada por plásmidos frente a la clorhexidina, principalmente en los SARM (17, 18). Por otra parte, Mengistu et al. (19), después de estudiar 48 aislamientos de un hospital general, señalan que no hay asociación entre la resistencia a la clorhexidina y la resistencia a los antibióticos. Los resultados obtenidos en nuestros ensayos con el digluconato de clorhexidina indican una eficacia similar de este desinfectante contra las cepas resistentes y sensibles a la meticilina, al igual que la tintura de yodo y el glutaraldehído alcalino.

Akimitsu et al. (20) indican que los SARM son más resistentes que los SASM a la acción del cloruro de benzalconio; en cambio, nuestros resultados muestran que, si bien estas diferencias se observaron tanto con el amonio cuaternario como con el hipoclorito de sodio, las mismas no demostraron ser estadísticamente significativas ($P = 1,0877$ y $P = 0,4122$, respectivamente) cuando se comparó la respuesta de los SARM y SASM entre sí. El biocida fenólico no mostró una buena actividad contra las cepas resistentes y sensibles a la meticilina analizadas en este trabajo.

Existe un amplio debate sobre la posible correlación entre la resistencia a los biocidas y la resistencia a los antibióticos. A pesar de que la resistencia bacteriana a los germicidas es un problema reciente, se comunican resistencias ambientales a estos compuestos

desde hace varios años. Entre ellas, la resistencia de los estafilococos a los desinfectantes catiónicos se ha observado desde 1990 (21). Algunos autores (22) señalan que el uso extendido de antisépticos y desinfectantes que contienen triclosán puede favorecer el desarrollo de la resistencia microbiana, en particular la resistencia cruzada a antibióticos. Jeljaszewicz et al. (23) destacan que el empleo de los antibióticos selecciona directamente las variantes resistentes a los antibióticos o desinfectantes, y que los elementos genéticos que confieren resistencia a los desinfectantes se hallan también presentes en los plásmidos que confieren resistencia a los antibióticos. Esta parecería ser la respuesta a muchos de los interrogantes, puesto que los microorganismos bacterianos son sumamente adaptables a los cambios ambientales producidos.

Es difícil saber si existe alguna relación entre la resistencia o susceptibilidad a los biocidas y a los antibióticos, dado que la resistencia a los antimicrobianos puede estar encadenada, pero no siempre se encuentran indicios clínicos de esta relación (17). Si bien algunos autores han postulado que algunos biocidas y antibióticos podrían compartir una "diana" común

(24), puede ser que los inhibidores que provocan cambios morfológicos iguales o similares en las células bacterianas por mecanismos diferentes no estén asociados con los mecanismos de resistencia relacionados (25).

Ciertos autores (26) señalan que el desarrollo de la resistencia a los antibióticos no parece estar relacionado con el incremento de la resistencia a los desinfectantes. Más aún, Russell y Path (27) advierten que el uso extenso de los antibióticos en la medicina y la introducción de los antibióticos en la alimentación animal representan la primera causa de la resistencia bacteriana a estas sustancias terapéuticas. Mientras tanto, se han encontrado cepas con susceptibilidad reducida a los biocidas que también son poco susceptibles a los antibióticos (28). Nuestros resultados evidencian la necesidad de poner a prueba los antisépticos y desinfectantes utilizados en los hospitales. Además, indican que los estafilococos, independientemente de su sensibilidad o resistencia a la meticilina, presentan respuestas variadas ante la acción de los mismos.

Existen pocas dudas de que los aislamientos hospitalarios tienden a ser menos sensibles a los biocidas que las

cepas de referencia, debido a que el uso tan difundido de estos compuestos actúa como una presión continua de selección en el ambiente hospitalario. Tal es así que los aislamientos específicos provenientes de diferentes sectores en un hospital difieren entre sí y también en su respuesta a los biocidas (24). Aunque se ha estudiado poco el posible efecto de los residuos de biocidas en los objetos inanimados o sobre la piel como fuente de influencia selectiva en las bacterias resistentes a los antibióticos, algunas bacterias pueden volverse resistentes a los biocidas mientras que otras conservan un alto grado de sensibilidad a los germicidas, incluso a pesar de intentos por incrementar su resistencia (27).

Para terminar, cabe recordar que el uso de concentraciones apropiadas, tanto de antisépticos como de desinfectantes, puede inhibir a más de una cepa nosocomial y prevenir algunas infecciones hospitalarias.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la traductora pública María Fabiana León su desinteresada colaboración. Este trabajo se financió parcialmente mediante subsidios de la Universidad Nacional de La Plata.

REFERENCIAS

- Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York city hospitals. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(1):9-17.
- Brumfitt W, Hamilton-Miller JM. The challenge of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs Exp Clin Res.* 1994;20(6):215-24.
- Fridkin SK, Gaynes RP. Antimicrobial resistance in intensive care units. *Clin Chest Med.* 1999;20(2):303-16.
- Mc Donnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;14:7-79.
- Farmacopea Nacional Argentina, VI Edición. Buenos Aires, Argentina: Secretaría de Estado de Salud Pública, Ministerio de Bienestar Social de la Nación Argentina; 1978.
- Kelsey JC, Sykes G. A new test for the assessment of disinfectants with particular reference to their use in hospitals. *Pharmaceutical J.* 1969;202:607-9.
- Magariños MC, Reynaldo MB, Flores MB, Infante AY, Castelo SM. Efecto de clorhexidina sobre aislamientos hospitalarios de *Staphylococcus aureus* en diferentes condiciones ambientales. *Rev Argent Microbiol.* 2001;33:241-6.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45:493-6.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, eleventh Informational Supplement. NCCLS Document M100-S11. Wayne, PA: National Committee for Clinical and Laboratory Standards; 2001.
- Famiglietti A, Goldberg M, Radice C, Bantar C, Couto E, Galas M, et al. Consenso sobre criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. Subcomisión de antimicrobianos de la Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica—Asociación Argentina de Microbiología; 2001. Pp. 4-9.
- Russell AD. Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems. *J Hosp Infect.* 1999;43 (suppl):S57-68.
- Sakuragi T, Yanagisawa K, Dan K. Bactericidal activity of skin disinfectants on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Anesth Analg.* 1995;81:555-8.
- Wichelhaus TA, Schäfer V, Hunfeld KP, Reimer K, Fleischer W, Brade V. Antibacterial effectiveness of povidone-iodine (Bettaisona) against highly resistance gram positive organisms. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1998; 200(5-6):435-42.
- Reimer K, Scheier H, Erdos G, Köning B, Köning W, Fleischer W. Molecular effects of a microbicidal substance on relevant microorganisms: electron microscopic and biochemical studies on povidone-iodine. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1998;200(5-6):423-34.
- Block C, Robenshtok E, Simhon A, Shapiro M. Evaluation of chlorhexidine and povidone iodine activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* using a surface test. *J Hosp Infect.* 2000;46(2):147-52.
- Irizary L, Merlin T, Rupp J, Griffith J. Reduced susceptibility of methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* to cetylpyridinium chloride and chlorhexidine. *Chemother.* 1996;42:248–52.
17. Russell AD, Tattawasart U, Maillard JY, Furr JR. Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(8):2151.
 18. Suller MT, Russell AD. Antibiotic and biocide resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*. *J Hosp Infect.* 1999;43(4):281–91.
 19. Mengistu Y, Ergie W, Bellet B. In vitro susceptibility of staphylococci to chlorhexidine and antibiotics. *Ethiop J Health Dev.* 1999;13(3):223–8.
 20. Akimitsu N, Hamamoto H, Inoue R, Shoji M, Akamine A, Tkemori K, et al. Increase in resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to β -lactams caused by mutations conferring resistance to benzalconium chloride, a disinfectant widely used in hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(12):3042–3.
 21. Coobson BD, Farrelly H, Stapleton P, Garvey RRJ, Price MR. Transferable resistance to triclosan in MRS. *Lancet.* 1991a;1548–9.
 22. Schweizer H. Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics. *FEMS Microbiol Lett.* 2001;202(1):1–7.
 23. Jeljaszewicz J, Mlynarczyk G, Mlynarczyk A. Antibiotic resistance in gram-positive cocci. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16(4):473–8.
 24. Russell AD. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. *J Appl Microbiol.* 2002; Suppl 92:121S–35S.
 25. Ng ME, Jones S, Leong SH, Russell AD. Biocides and antibiotics with apparently similar actions on bacteria: is there the potential cross-resistance? *J Hosp Infect.* 2002;51:147–9.
 26. Rutala WA, Stiegel MM, Sarubbi FA, Weber DJ. Susceptibility of antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant hospital bacteria to disinfectants. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1997; 18(6):417–21.
 27. Russell AD, Path FRC. Biocides and pharmacologically active drugs as residues and in the environment: —is there a correlation with antibiotic resistance? *Am J Infect Control.* 2002; 30:495–8.
 28. Suller MT, Russell AD. Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46:11–8.

Manuscrito recibido el 25 de junio de 2003. Aceptado para su publicación, tras revisión, el 3 de agosto de 2004.

ABSTRACT

Efficacy of biocides against hospital isolates of *Staphylococcus* sensitive and resistant to methicillin, in the province of Buenos Aires, Argentina

Objective. To assess the response to the action of different antiseptics and disinfectants usually used in Argentinian hospitals of hospital staphylococci sensitive and resistant to methicillin. To test the effectiveness of the biocides by measuring their effective bactericidal concentrations, and to determine whether there is any correlation between biocide resistance and methicillin resistance in this bacterial population.

Methods. The action of seven biocides was tested against 25 strains of nosocomial *Staphylococcus* spp. sensitive and resistant to methicillin, and in *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Hospital strains were obtained from April, 2000 to May, 2002, from clinical samples (blood culture, urine culture, catheter tip or abscess) from male and female inpatients and outpatients at two tertiary hospitals. After isolation, antibiotic sensitivity was tested with the agar diffusion method of Kirby and Bauer. The action of hospital biocides on the strains was studied with the Kelsey-Sykes test, which establishes the effective bactericide concentrations of these compounds.

Results. The results showed that the response of strains sensitive and resistant to methicillin varied in comparison to the collection strain. Chlorhexidine digluconate, povidone iodine, weak tincture of iodine and alkaline glutaraldehyde were effective against most strains, regardless of whether they were sensitive or resistant to methicillin.

Conclusions. We found no indication of a relationship between resistance to methicillin and resistance to biocides. Our study shows that further research is needed to evaluate the efficacy of chemical agents against microorganisms that have been exposed to antibiotic therapies.