



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León
Carrera de Bioanálisis Clínico



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO



Tesis para optar al título de Licenciado en Bioanálisis Clínico.

Prevalencia del gen *mecA* en *Staphylococcus aureus* fenotipo resistentes a meticilina aislados en personal de salud, pacientes y sus familiares en las unidades de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal del HEODRA.

Autoras:

- **Flora Suguey Hernández Pérez.**
- **Kenia del Rosario López Peralta.**

Tutora:

Mercedes Cáceres. PhD

Profesor Titular

Departamento de Microbiología-UNAN-León



ÍNDICE

Dedicatoria

Agradecimiento

Contenido	Páginas
Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Planteamiento del problema.....	4
Justificación.....	5
Objetivos.....	6
Marco Teórico.....	7
Diseño metodológico.....	15
Resultados.....	18
Discusión.....	20
Conclusión.....	22
Recomendaciones.....	23
Referencias bibliografías.....	24
Anexos.....	28



RESUMEN

Prevalencia del gen *mecA* en *Staphylococcus aureus* fenotipo resistentes a meticilina aislados en personal de salud, pacientes y sus familiares en las unidades de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal del HEODRA.

Staphylococcus aureus resistente a Meticilina (SARM) es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones nosocomiales. La identificación del gen *mecA* en aislados de *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina es crucial, por ser el gen responsable de la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos y de la dispersión de esta bacteria dentro del hospital y hacia la comunidad. **Ojetivos:** Determinar la presencia del gen *mecA*, en aislados de *S. aureus* con fenotipo de resistencia a Meticilina y describir complicaciones debidas a procesos infecciosos desarrollados por los participantes en el estudio. En el año 2009 realizamos un estudio de Portadores nasales de SARM, que incluyó 77 participantes, se aislaron 15 cepas de *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina. En este trabajo, se estudió la presencia del gen *mecA*, utilizando la técnica molecular PCR, 5 de las 15 cepas son gen *mecA* positivo. De acuerdo a las complicaciones desarrollados por los portadores nasales de *S. aureus* fenotipo resistente a meticilina, 3(60%) de los pacientes pertenecientes a la unidad de diálisis peritoneal desarrollaron peritonitis, entre el personal de salud solamente 1(33%) con infección de herida quirúrgica y de los familiares ninguno. No se hizo cultivo para confirmar la presencia de *S. aureus*, sin embargo los pacientes recibieron tratamiento antimicrobiano (vancomicina) tomando en cuenta la posibilidad de que *S. aureus* resistente a meticilina fuese el agente causal. **Conclusión:** En las unidades de Hemodialisis y Dialisis Peritoneal del HEODRA existe un porcentaje del 6.4% de portadores nasales de *S. aureus*, gen *mecA* positivo (SARM). El mayor número de portadores nasales de SARM son los trabajadores de la salud y la complicación encontrada fue la peritonitis.

Palabras claves: SARM, resistencia antimicrobiana.

Autoras: Flora Sughey Hernández Pérez, Kenia del Rosario López Peralta.



INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus resistente a Meticilina (SARM) es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones nosocomiales y comunitarias.

Este es un microorganismo que presenta una patogenicidad variable que le permite causar desde infecciones banales hasta infecciones con compromiso vital (endocarditis, septicemias, meningitis, etc.). Muchas de estas enfermedades infecciosas ocurren en personas que están colonizadas por el germen, lo que constituye uno de los principales factores de riesgo para desarrollar una infección. A eso se le suman los problemas relacionados con el tratamiento antimicrobiano, debido al uso indiscriminado de los antibióticos, convirtiendo este problema en uno de los mayores retos terapéuticos en la actualidad (1,2).

La colonización e infección por *Staphylococcus aureus* son conocidas por estar significativamente asociadas con infecciones entre pacientes hospitalizados. Se han descrito una serie de factores de riesgo que favorecen la adquisición de SARM, por ejemplo, una estancia hospitalaria prolongada, en especial en unidades de cuidados intensivos, tratamiento prolongado con antibióticos de amplio espectro, enfermedades subyacentes graves con marcadores de debilidad y dependencia del personal sanitario y la práctica de procedimientos invasivos (catéteres intravenosos, sondas urinarias, traqueostomías, la cirugía,) etc. (2).

En pacientes sometidos a diálisis peritoneal y a hemodiálisis, *S. aureus* es el principal microorganismo responsable de las infecciones del punto de inserción o de la tunelización del catéter, provocando infecciones que pueden progresar hasta la peritonitis o pérdida del catéter o presentar otros procesos infecciosos del acceso vascular, fistula, inmunidad disminuida y venopunciones para la diálisis (2,3).

Los SARM son resistentes a todos los antibióticos betalactámicos. La resistencia a meticilina en *S. aureus* es mediada por una proteína fijadora de antibiótico (PBP) con baja afinidad conocida como PBP2a codificada por un gen denominado gen *mecA*. Otros mecanismos como Hiperproducción de Betalactamasas han sido también implicados, sin embargo las cepas SARM que presentan el gen *mecA* son las que juegan el rol central (4).

Si bien una colonización por SARM en un individuo, por lo demás sano generalmente no es grave, este microorganismo puede amenazar la vida de los pacientes, no solo en termino de adquirir una subsecuente infección, sino también por el potencial mecanismo de transmisión entre el personal de salud y sus familiares, convirtiéndose en un problema de salud que requiere estrecha vigilancia y control (2, 5, 6).



ANTECEDENTES

Staphylococcus aureus resistente a Meticilina fue descubierto originalmente en el Reino Unido en 1961 de forma casi inmediata tras la introducción de la Meticilina en terapéutica (Jevons, 1961; Knox 1961), después apareció en Europa a fines de la década del 60, y en Norteamérica a fines de la década del 70, como causa de infecciones graves intrahospitalarias. Constituyo un problema más extenso e importante en el decenio de los 80, especialmente en grandes hospitales de nivel terciario. Luego en Gran Bretaña SARM aumento de 1% en 1978 a 28% en 1983 (7).

Actualmente SARM continúa siendo un problema en muchos hospitales, más del 50% de los *Staphylococcus aureus* recuperados son de las unidades de cuidados intensivos (UCI), y cerca de 40%, son aislados de otras áreas. Cada año se incrementan los reportes que mencionan las infecciones estafilocócicas como causa principal de muerte, y en países como Inglaterra, la incidencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina se ha incrementado del 8% en 1993 al 44% en 1998. Se ha evidenciado también que la mortalidad ha sido mayor en hombres y en personas de la tercera edad que en el resto de la población (8).

En la unidad de diálisis en un hospital regional en la ciudad de Kaohsiung, Taiwán durante tres periodos de estudio (septiembre del 2002, enero del 2003 y mayo del 2003) Po-Liang Lu y col. realizaron un estudio titulado “Portadores de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, infección y transmisión en pacientes en diálisis, trabajadores de la salud y sus familiares”, el cual reportó una proporción de 28.6% portadores nasales de *S. aureus* para pacientes de diálisis, 4 a 5.3% en personal médico y 3.2-6.8% en familiares, quienes desarrollaron una subsecuente infección (5)

El grupo bacteriológico Bolívar, Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Venezuela, en un estudio titulado “SARM en pacientes y personal de salud de la unidad de diálisis del hospital Julio Criollo Rivas” realizado entre septiembre del 2004 y febrero del 2005 por Ixora Requena y col. se identificó un 20% y 16.6% de portadores de SARM en los pacientes sometidos a diálisis y el personal de salud respectivamente. De esas cepas identificadas como SARM un 20% que correspondían a los pacientes dializados y un 8.33% que pertenecían al personal de enfermería, resultaron productoras de PBP2a (4).

En Nicaragua en el año 2003, un estudio realizado en niños hospitalizados en el área de Pediatría del HEODRA, por Lara E. reporto que el 29% de los *Staphylococcus aureus* aislados fueron resistentes a Meticilina (SARM) y un 93% de todas las cepas analizadas utilizando PCR para la determinación de la presencia del gen *mecA* dieron positivas para este gen (9).

Luego en el año 2007, en el estudio “Colonización nasal por *S. aureus* resistentes a meticilina en pacientes y personal médico de las áreas de Pediatría y UCI del HEODRA”, realizado por Gutiérrez C. Meylan, se confirmó la presencia de SARM en



el 10% de las personas incluidas en el estudio. La mayor proporción de los portadores nasales se encontró entre el personal de salud de los Servicios de UCI y Pediatría y el 28 % de las cepas SARM debieron su resistencia a la presencia del gen mecA (10).

Hernández F. y López K. reportaron que la frecuencia de SARM encontrada entre personal de salud, pacientes y familiares de las unidades de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal en el periodo de Junio a Septiembre del 2009 en el HEODRA fue de 19.4% (11).

En el 2010, Arbizú O. reporto una frecuencia del 10% de portadores nasales de SARM en un estudio realizado en 208 trabajadores de la salud de todos los servicios del HEODRA, 356 pacientes y 234 muestras clínicas (12).

Calderón L. y Esquivel A. en el 2010 realizaron un estudio en el Hospital Vélez Paíz para determinar la frecuencia de portadores nasales de SARM entre el personal de esa institución, el cual reporto un 7% de portadores nasales (13).

Castillo F. reportó en el 2010 en el estudio realizado en el Hospital España de la ciudad de Chinandega el 15% de portadores nasales de *S. aureus* meticilino resistente tanto de pacientes como de personal de salud y la condición de cepa SARM se confirmó por la portación del gen mecA (14).

Como se puede observar, desde que surgieron los primeros brotes se ha producido un aumento progresivo de la prevalencia de SARM en la mayoría de los países y en las diferentes áreas de los hospitales, llegando en la actualidad a cifras verdaderamente importante.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los SARM son un problema de salud importante en todo el mundo y son de particular interés en el ambiente hospitalario. En el 2009 en el HEODRA, reportamos la circulación de SARM fenotipo resistentes a Meticilina en Pacientes, familiares de los pacientes y Personal de Salud de las Unidades de Hemodiálisis y Diálisis Peritoneal. Siendo el gen *mecA* el que le confiere al *Staphylococcus aureus* la resistencia a los antibióticos betalactámicos y también el factor de riesgo más importante en la dispersión de esta bacteria en los hospitales, es que se hace necesario indagar ¿son las cepas de *S. aureus* fenotipo resistentes portadoras del gen *mecA*?



JUSTIFICACIÓN

Staphylococcus aureus resistente a Metilina (SARM) se ha convertido en un problema de salud pública en todo el mundo. Es difícil enfatizar suficientemente en la importancia de este como patógeno nosocomial: su virulencia, dificultad de tratamiento y capacidad para ocasionar brotes epidémicos mantenidos en los hospitales le convierten en el microorganismo de mayor relevancia epidemiológica y clínica dentro de los hospitales. Es por ello que la identificación del gen *mecA* en aislados de *S. aureus* fenotipo resistente a Metilina es crucial, por ser el gen responsable de la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos y de la dispersión de esta bacteria dentro del hospital y hacia la comunidad.



OBJETIVOS

GENERAL:

- ❖ Identificar la presencia del gen *mecA* en *S. aureus* fenotipo resistente a Metililina aislados en personal de salud, pacientes y familiares de los pacientes las Unidades de Hemodiálisis y Diálisis Peritoneal del HEODRA.

ESPECIFICO:

1. Determinar la presencia del gen *mecA*, en aislados de *S. aureus* con fenotipo de resistencia a Metililina en el personal de salud, pacientes y familiares de los pacientes.
2. Describir complicaciones debidas a procesos infecciosos desarrollados por los participantes en el estudio que resultaron portadores nasales de *S. aureus* con fenotipo resistente a Metililina.



MARCO TEÓRICO

Los *Staphylococcus aureus* son microorganismo de gran importancia médica. Desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano. Fueron observados por primera vez por Koch y Pasteur, luego en 1880 Ogston fue quien los denominó con los siguientes términos derivados del griego staphyle = racimo y kokkos = granos, y en 1884, Rosenbach relacionó estas bacterias con infecciones en heridas y osteomielitis (15, 16).

Son bacterias Gram positivas, aerobios o anaerobios facultativos que pertenecen a la familia Micrococcaceae, que incluye a los cocos Gram positivos catalasa positivos. Miden aproximadamente un micrómetro de diámetro y producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides, son inmóviles, carecen de esporas y crecen en racimos, aunque también pueden agruparse en pares, tétradas o formar cadenas. 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) (3,17).

La capacidad de estas bacterias para producir enfermedad en los hombres depende de una combinación de factores como: el estado inmunológico del huésped, la gran capacidad para multiplicarse y diseminarse en los tejidos y la producción de una diversidad de sustancias extracelulares. Estas sustancias ayudan a degradar los tejidos locales del huésped para convertirlos en nutrientes para las bacterias. Entre éstas se encuentran: exotoxinas, leucocidinas, enterotoxinas, coagulasa, hialorudonidasa, nucleasas, proteasas, lipasas, colagenasa y estafilocinasa (15, 18).

Los *Staphylococcus aureus* colonizan la piel y fosas nasales del 20% al 30% de niños y adultos, alrededor del 1% de los portadores nasales son meticilino resistentes. El personal hospitalario, así como personas que padecen de afecciones crónicas y los que portan dispositivos médicos, poseen una tasa mayor de colonización con *S. aureus* usualmente multirresistentes. (19, 20)

El principal medio de contagio lo constituye el contacto de persona a persona a través de las manos contaminadas. Un individuo que entra en contacto con una cepa de SARM puede resultar colonizado, desarrollar una infección y/o convertirse en portador (21).

Se habla de colonización por SARM cuando se aísla este microorganismo en una muestra clínica en ausencia de signos de infección. Las áreas de colonización más frecuentes son las lesiones cutáneas (heridas quirúrgicas, úlceras de decúbito), el tracto respiratorio (habitualmente en enfermos intubados o portadores de traqueostomías) y el tracto urinario (generalmente en pacientes sondados) (21).

Mientras que un individuo se considera portador de SARM cuando este microorganismo se aísla en una localización donde no suele causar infección y que facilita la persistencia del mismo en el organismo. La localización más frecuente es la



cavidad nasal y otros sitios menos frecuentes son: la piel, el cabello, las uñas, las axilas, el perineo o la vagina. La importancia del estado de portador radica en que con frecuencia precede o se asocia a la colonización y a la infección por SARM (21).

Una vez rotas las barreras de la piel o las mucosas, los *Staphylococcus* se diseminan en los tejidos y se multiplican rápidamente produciendo generalmente furúnculos o abscesos localizados en los que se produce necrosis. Causan infecciones del SNC e infecciones graves como osteomielitis y endocarditis, infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y además causa septicemia. También, es posible que las bacterias alcancen el torrente circulatorio causando el síndrome de Shock Tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo o alcanzando el linfático. Por lo tanto, el principal mecanismo de defensa del huésped lo constituye la integridad de las barreras formadas por la piel y las mucosas (15, 17, 18, 19).

RESISTENCIA DE *S. AUREUS* A METICILINA.

La resistencia bacteriana se define como “una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico” (22).

Desde la introducción de los antibióticos la mortalidad por infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* disminuyó drásticamente, pero muy pronto se puso de manifiesto la resistencia de algunas cepas a la penicilina (1942). Luego la introducción de penicilinas semisintéticas (1960) no fue la solución al problema de la resistencia bacteriana; pues en corto tiempo estos microorganismos también mostraron resistencia a estos fármacos (3).

SARM significa *Staphylococcus aureus* resistente a la Meticilina. Es un tipo de bacteria estafilococo que ha desarrollado resistencia a los antibióticos habitualmente usados para tratar infecciones bacterianas. Las cepas *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se les considera resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos (penicilinas, meticilina, ampicilina, cefalosporinas, carbapenem y combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas). (23, 24).

Frecuentemente los SARM presentan además resistencia a múltiples fármacos, haciendo difícil el manejo de los procesos infecciosos causados por esta bacteria. Se ha visto además que, a medida que aumenta la exposición clínica la resistencia de SARM se amplía (15, 19).

Actualmente, la vancomicina o la teicoplanina siguen siendo el tratamiento de elección frente a una cepa SARM, aunque en los últimos tiempos se ha descrito un fenómeno de disminución de sensibilidad de varias especies de *Staphylococcus* a estos antibióticos, incluyendo a *S. aureus* (17).



MECANISMOS DE RESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS A METICILINA.

S. aureus ha sufrido durante los últimos años una evolución constante en su patrón de resistencia bajo la presión de los diversos antibióticos y de sus sucesivas modificaciones estructurales. La resistencia a la meticilina puede ser resultado de dos mecanismos: Hiperproducción de betalactamasas y/o la Modificación en la unión a la penicilina de las PBPs.

✚ Hiperproducción de β -lactamasas (resistencia a meticilina borderline).

Fue descrita inicialmente por McDougal y Thornsberry. Las β -lactamasas son enzimas extracelulares que inactivan la penicilina, ésta es capaz de romper el anillo β -lactámico a través de un proceso de hidrólisis, de esta manera destruyen las moléculas β -lactámicas antes que estas tengan oportunidad de entrar en la célula. Esta enzima conocida inicialmente como penicilinasa es codificada por un transposón transportado por un plásmido de 17.2 Kb y es en dicho plásmido donde se localiza el determinante genético (gen *bla_Z*) que codifica la síntesis de la β -lactamasas estafilocócica (24, 30).

Las β -lactamasas de *S. aureus* son inducibles, esto significa que la producción de niveles elevados de estas enzimas depende de la presencia de los antibióticos β -lactámicos. El mecanismo de inducción es el siguiente: la penicilina y sus análogos favorecen la producción de una proteína antirrepresora, que al inhibir el gen represor de la β -lactamasas (gen *bla_Z*) aumenta la síntesis de éstas enzimas (24).

Así, la sensibilidad de los β -lactámicos a las β -lactamasas depende de su sensibilidad a la hidrólisis enzimática y del nivel de producción de β -lactamasas que inducen. Dicha sensibilidad se determina mediante la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada antibiótico β -lactámico frente a *S. aureus*. La CIMs de oxacilina se encuentran cerca del límite de interpretación de resistencia, además estas cepas pueden ser tratadas mediante combinaciones de β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasa y usualmente no tienen resistencia múltiple, ni tampoco crecen en oxacilina-agar salino (17, 24, 30).

Las altas concentraciones de enzimas hacen que la oxacilina y meticilina, que fueron desarrolladas para resistir la acción hidrolítica de la penicilinasa, sean lenta y apreciablemente degradadas (30).



Modificación de las PBPs.

Este mecanismo de resistencia fue descubierto por Hayes y Hartman, con la identificación de alteraciones en la afinidad de las proteínas que se unen a las penicilinas o PBPs – penicillin binding proteins- (25, 26).

Las PBPs son receptores enzimáticos en la membrana bacteriana que catalizan las reacciones de transpeptidación del peptidoglicano durante la síntesis de la pared celular. Las cepas de *Staphylococcus* se caracterizan por producir al menos cuatro PBPs (PBP1, PBP2, PBP3, PBP4) que son inhibidas por los betalactámicos (27, 28).

La 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*) (7).

El complejo *mec* contiene el gen *mecA* gen estructural de la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2a) y dos genes *mecI* y *mecR*. El gen *mecI* codifica una proteína represora de la transcripción: *MecI* y el gen *mecR1* codifica una proteína de transducción de señal: *MecR1* (29).

Las proteínas descritas regulan la transcripción inducible de *mecA* de la siguiente manera: *MecR1* registra la presencia de antibióticos β -lactámicos con su dominio extracelular de unión a la penicilina y activa su dominio citoplásmico en forma de proteasa, por rompimiento autocatalítico. Esta proteasa rompe la proteína *MecI* que se encuentra unida al sitio operador del gen *mecA*, liberando la represión de la transcripción, por lo que se lleva a cabo la expresión del gen *mecA* produciéndose la proteína PBP2a. Esta es una transpeptidasa que cataliza la formación de puentes cruzados de peptidoglicano de la pared celular bacteriana. De esta manera la PBP2a asume la síntesis de la pared bacteriana cuando las otras PBPs están saturadas por el antibiótico evitando así la muerte del microorganismo (24, 29)

El gen *mecA*, está incrustado en una isla cromosomal- Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC*mec*) que está integrado dentro del cromosoma del *S. aureus* en un sitio específico de localización, ubicado cerca del origen de replicación (7, 25).

El SCC*mec* es un elemento genético móvil. La movilidad de SCC*mec* se debe en parte a la presencia de recombinasas funcionales de la familia invertasa/resolvasa y codificada por el complejo gen *ccr*. Los tipos de SCC*mec* son definidos por combinación de clases del complejo gen *mec* con el alotipo *ccr* (7).



Existen por lo menos 5 tipos de SCCmec (I a V). Los SCCmec difieren uno de otro por el tamaño y la composición. SARM presenta fundamentalmente los tipos I-III que portan genes adicionales de resistencia. También han sido descritas cuatro clases mayores: clases A, B, C y D. En *S. aureus* solo se han encontrado las clases A y B, la C se encuentra en *S. haemolyticus* y la D en *S. hominis* (7).

El SCCmec no contiene genes de virulencia. En este sentido se le conoce como una resistencia a los antibióticos, ya que aparte de conferir resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, contiene genes de resistencia adicionales como consecuencia de la integración de plásmidos y transposones en el cassette cromosomal. También confiere resistencia a eritromicina, espectinomicina, tetraciclina, kanamicina, contiene otros elementos, entre ellos Tn554 (que codifica resistencia a macrólidos, clindamicina y estreptomycin B) y pT181 (que codifica la resistencia a tetraciclinas) (7).

El origen de gen *mecA* y el SCCmec, es desconocido, pero el gen *mecA* y sus regiones flanqueantes han sido también detectados en otras especies de *Staphylococcus*. Una posible fuente es *S. sciuri*, ya que varios estudios sugieren que *mecA* es un elemento nativo de *S. sciuri* mostrando un 88% de similitud genómica con *mecA* de SARM. Por otro lado estudios genéticos y epidemiológicos sugieren que este elemento es adquirido de *S. aureus* por transferencia horizontal de *Staphylococcus* coagulasa negativo (7).

DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA A METICILINA.

Identificación fenotípica

El método comúnmente utilizado es el de Difusión en disco. En la actualidad, la prueba de difusión en agar más empleada es el método de Kirby- Bauer, que fué desarrollado a principios de la década de 1960 por William Kirby, A. W. Bauer y sus colaboradores en la Washington Medical School, siendo recomendado por la Food and drug administration (FDA) y el National Committee for Clinical Laboratory Standar (NCCLS) (31).

Esta consiste en colocar un disco impregnado de antibiótico en agar en el que previamente se ha inoculado la bacteria objeto de la prueba, el disco capta humedad y el antibiótico difunde radialmente hacia afuera a través del agar, produciendo un gradiente de concentración de antibiótico. El antibiótico está presente a una concentración alta cerca del disco y afecta incluso a gérmenes igualmente sensibles (los microorganismos resistentes crecen hasta el disco). A medida que aumenta la distancia del disco disminuye la concentración de antibiótico y solo los patógenos más sensibles resultan dañados. Si el agente inhibe el crecimiento bacteriano, entorno al disco se forma un anillo claro. Cuanto más ancha es la zona que rodea al disco más



sensible es el patógeno. El diámetro del anillo es también función de la concentración inicial del antibiótico, de su solubilidad y de su tasa de difusión a través del agar. Por lo tanto, no se puede emplear el diámetro de la zona de inhibición para comparar directamente la eficacia de dos antibióticos diferentes (31, 33).

En el año 2001, Mougeot et al. Propusieron el uso de un disco de 30 µg de cefoxitina, utilizando el método de difusión, para determinar la resistencia a meticilina. La cefoxitina es una cefamicina que actúa como un inductor más fuerte que la oxacilina sobre la producción de PBP2 en aislados de *S. aureus* que poseen el gen *mecA*; por lo tanto parece más eficaz que la oxacilina en la detección de la resistencia a meticilina mediante el test Difusión en Disco, al menos en aquellas poblaciones de *S. aureus* que son heterorresistentes (31, 32).

El test de difusión en discos de oxacilina y cefoxitina se lleva a cabo preparando un inóculo ajustado al 0,5 de McFarland y extendiéndolo sobre una placa de agar Muller Hinton. Se utilizan discos de oxacilina de 1 µg y discos de cefoxitina de 30 µg y se aplican las normas de la NCCLS, tomando la presencia un halo menor o igual a 19mm como resistente a meticilina mediado por el gen *mecA* (31, 32).

Desde entonces, diversos estudios han ensayado el empleo del disco de cefoxitina con dicho fin, hallando todos ellos que se trata de una opción sencilla y económica.

Identificación genotípica

Un método alternativo, rápido y eficaz es la detección del gen *mecA* por métodos moleculares tales como el de amplificación mediante PCR (Murakami et al., 1991). Este método posee la ventaja de no estar sujeto a las condiciones del crecimiento de la cepa, pudiendo aplicarse a gran número de aislados y puede ser aconsejable en casos de duda con valores de CMI cercanas al límite. La detección del gen *mecA* por la técnica de PCR identifica siempre correctamente la mayoría de las cepas y es considerado el Gold Standard para detectar la resistencia a meticilina (17, 30).

El principio fundamental de PCR es la amplificación de un fragmento específico de ADN por medio de ciclos sucesivos de multiplicación exponencial hasta llegar a obtener una cantidad adecuada del producto el cual puede ser visualizado por electroforesis. De esta manera, una sola molécula puede generar más de un millón de copias de sí misma luego de 30 ciclos de replicación exponencial (32).

COMPLICACIONES DEBIDAS A PROCESOS INFECCIOSOS EN PACIENTES DIALIZADOS Y HEMODIALIZADOS PORTADORES DE SARM.

Las infecciones bacterianas son la principal causa de mortalidad en los pacientes de Hemodializados y dializados. Las bacterias causantes de la infecciones pueden ser tanto exógenas (adquiridas desde equipo, objetos o fluidos de diálisis contaminados) como endógenas (causadas por invasión de bacterias que colonizan al paciente) (3, 34).



El mecanismo de transmisión más frecuente de estos microorganismos desde un paciente colonizado hacia otros pacientes es por medio de las manos del personal que no cumple con las medidas del control de infecciones (3, 34).

Abscesos vasculares

Las infecciones más frecuentes están vinculadas a los accesos vasculares. Para el proceso de HD, se utilizan como accesos vasculares fístulas arterio-venosas autólogas, injertos protésicos o catéteres ubicados en vena yugular, subclavia o femoral. Las complicaciones más comunes son infección del acceso y flujo bajo de sangre debido a que esta se coagula dentro del acceso (3,34).

Los catéteres venosos son más propensos a desarrollar infección y problemas de coagulación que pueden requerir medicamentos y retiro o reemplazo del catéter. Los injertos AV pueden también desarrollar flujo sanguíneo bajo, formación de coágulos o de estenosis o angostamiento del acceso. En esta situación, el injerto del AV puede requerir angioplastia, un procedimiento para ensanchar el segmento estrecho. Otra opción es realizar una cirugía para substituir el segmento estrecho (3, 34).

Los procesos infecciosos y la disminución del flujo son mucho menos comunes en las fístulas AV que en las prótesis AV y los catéteres venosos (3, 34).

Entre 50% y 80% de las bacteriemias presentes en HD están asociadas al lugar de la punción del acceso vascular. Todo esto se traduce en un riesgo potencial de desarrollar endocarditis, embolismos sépticos o meningitis (3, 34).

Bacteriemia.

SARM es una etiología principal de bacteriemia. Esta infección es predominantemente nosocomiales, ocasiona una elevada morbimortalidad y tiene escasas opciones terapéuticas (3, 35).

La mayoría de los pacientes tienen alguna enfermedad crónica. Las bacteriemias por *S. aureus* que acontecen en el hospital se relacionan con el uso de catéteres y otros procedimientos invasivos, neumonías y la infección del lecho quirúrgico, mientras que en las bacteriemias de la comunidad el foco originario suele ser extravascular (3, 35).



✚ Peritonitis asociada a la diálisis peritoneal crónica.

La peritonitis sigue siendo la principal complicación de este tipo de diálisis y una de las causas que con mayor frecuencia causan su suspensión. El origen más habitual de esta infección es la contaminación del catéter por contaminación de la piel (3, 35).

Los portadores de SARM tienen mayor frecuencia de peritonitis, infecciones del punto de salida del catéter, suspensión de la diálisis peritoneal y pérdida del catéter. Otras vías patogénicas de la infección son la infección del orificio de salida y el túnel subcutáneo del catéter, la vía hematológica la contaminación del sistema, etc (3, 35).

Puede manifestarse con dolor abdominal espontáneo y a la palpación y con menos frecuencia náusea, fiebre, vómitos y diarreas. El líquido de diálisis suele ser turbio y tiene en general >100 leucocitos/ mm^3 (3, 35).

INFECCIONES CAUSADAS POR *S. AUREUS* RESISTENTES A METICILINA EN PERSONAL DE SALUD Y FAMILIARES.

Staphylococcus aureus es un agente frecuente de infección. Produce una amplia gama de enfermedades, desde infecciones cutáneas superficiales a infecciones de partes blandas y óseo-articulares como abscesos profundos, celulitis, impetigo, furunculos, infección de heridas quirúrgicas, osteomielitis, etc. Es también agente de neumonías e infecciones urinarias. Si bien una colonización por SARM en un individuo, por lo demás sano generalmente no es grave, este microorganismo puede amenazar la vida de las personas que estén colonizadas por él.



DISEÑO METODOLÓGICO

- ❖ **Tipo de estudio:** Descriptivo de corte transversal.
- ❖ **Área de estudio:** Unidad de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello-León.

La unidad de hemodiálisis se encuentra ubicada en el primer piso del hospital, casi en frente del laboratorio. Esta se realiza mediante un filtro especial para limpiar la sangre denominado dializador, el dializador se conecta a una máquina. Durante el tratamiento, la sangre circula por una serie de tubos dirigiéndose hacia el dializador, el cual filtra los desechos y el exceso de líquido, a continuación, la sangre purificada regresa al organismo por otro juego de tubos.

La hemodiálisis suele realizarse dos veces por semana a cada paciente (Lunes y Jueves, Martes y Viernes), con una duración de 4hrs (de 6:30 a.m. a 11:00 a.m.) La unidad consta de 7 dializadores, un total de 12 Pacientes, 3 Médicos y 2 Enfermeras.

Diálisis peritoneal es un proceso para eliminar los desperdicios como la urea y el potasio de la sangre, así como también el exceso de líquido, cuando los riñones son incapaces de hacerlo. Se realiza normalmente en el hogar. El líquido de diálisis se infiltra a través de un catéter de diálisis peritoneal, este catéter esta colocado en el abdomen del paciente. Los intercambios de líquido se hacen durante el día, normalmente con cuatro intercambios al día. Los pacientes asisten una vez por semana a consulta y a recibir el medicamento necesario (ej.: Eritropoyetina). La unidad consta con un total de 32 Pacientes y 2 Médicos.

- ❖ **Universo de estudio:** Todos los pacientes tratados en las unidades de hemodiálisis, Diálisis peritoneal, familiares y personal de salud asignado a estas área.
- ❖ **Muestra de estudio:** Pacientes tratados en las unidades de hemodiálisis, Diálisis peritoneal, familiares y personal de salud portadores nasales de Cepas *S. aureus* con fenotipo resistencia a Meticilina, que fueron identificados en el estudio de portadores nasales en el año 2009.

❖ **Fuente:** Primaria y secundaria.

❖ **Procesamiento de las muestras:**

Las cepas de SARM aisladas fueron descongeladas, reactivadas y analizadas por la técnica de PCR.



-Detección molecular del gen *mecA* en cepas SARM: Para determinar la presencia del gen *mecA*, se utilizó la técnica molecular de PCR según Smyth R.W y col 2001.

NUCLEÓTIDOS: *mecA*₁: 5'-GCA ATC GCT AAA GAA CTA AG-3' y *mecA*₂: 5'-GGG ACC AAC ATA ACC TAA TA-3', *nuc*₁: 5'-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3' y *nuc*₂: 5' AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC-3'. El gen *mecA* es de 222 bp y *nuc* que identifica que es un *Staphylococcus aureus* de 281 bp., fueron obtenidos de la compañía thermo Scientific. Las cepas analizadas y los controles fueron cultivadas en Agar sangre por 24 h. a 37°. De este cultivo se tomó una asada de colonia y se inocularon en crioviales que contenían 100 ul de agua sigma y se colocaron en baño maría en ebullición por 10 minutos. Las muestras se dejaron enfriar por 5 minutos a -20°. Luego se centrifugaron a 12000 rpm por 5 minutos y se extrajo el sobrenadante. Para el PCR se uso Illustra pure Tag Ready-To - Go PCR beads, la concentración corresponde a Tris- HCl 10 mM, (pH 9.0), KCl 50 mM, MgCl₂ 1.5 mM, dNTPs 200 uM y de Taq ADN polimerasa 2.5 u, Se realizó un mix de primers *mecA*₁ 1 ul, *mecA*₂ 1 ul, *nuc*₁ 1 ul, *nuc*₂ 1 ul y ADN molde 2 ul, correspondiendo a un volumen final de 25 ul. Amplificación 95°C por 7 minutos, (95°C por 10 segundo, 58°C por 20 segundo, 72°C por 2 minutos, 72°C por 5 minutos 30 ciclos, finalizo en 4°C. El producto de PCR fue evaluado en un gel de Agarosa al 2% de la compañía Invitrogen con 0.5 ug/mL de bromuro de ethidium, la electroforesis se corrió a 100 voltios por 40 minutos, las bandas de ADN se visualizaron en una cámara con luz ultra violeta y fotografiada.

❖ **Control de calidad:**

Para el control de calidad se utilizaron las siguientes cepas:

CCUG 35601 *S. aureus*

ATCC 25923 *S. aureus*

Para alcanzar el objetivo 2 “**Describir complicaciones debidas a procesos infecciosos desarrollados por el personal de salud, los pacientes y los familiares portadores nasales de *S. aureus* con fenotipo resistente a meticilina**” se indagó en los expedientes (en el caso de los pacientes) y se realizó una entrevista al personal de salud y a los familiares. Se tomaron en cuenta los procesos infecciones que se presentaron 3 meses antes de la toma del hisopado y 3 meses después del mismo.

❖ **Consideraciones éticas:** para la realización del presente trabajo se solicitó autorización de la Dirección del HEODRA para acceder a los expedientes, además a cada paciente que participó en el estudio inicial que permitió el aislamiento de las cepas a estudiar se le aplicó consentimiento informado. Ver anexos.

❖ **Plan de análisis:** Los datos fueron introducidos en una base de datos Microsoft Excel y los gráficos también realizados en el mismo.



Operacionalización de las variables

Variable	Concepto	Indicador	Valor
Gen mecA	Trozo de ADN cromosomal adicional que posee los elementos regulatorios que controlan la transcripción del gen mecA, el cual es responsable de la inducción de la síntesis de la PBP2a.	PCR	-Positivo -Negativo
Complicaciones debidas a procesos infecciosos por <i>S. aureus</i>	Enfermedad causada por la invasión del organismo por microorganismos patógenos.	Expediente, entrevista.	Pacientes: Peritonitis -Acceso vascular, fistula o catéter -bacteremia, etc. Personal de salud y familiares: infecciones de piel y sistémicas comúnmente causadas por <i>S. aureus</i> .



RESULTADOS

En el año 2009 realizamos un estudio de Portadores nasales de SARM, que incluyó 77 participantes de los cuales 17 fueron personal de salud, 40 fueron pacientes de estos 12 pertenecían a la unidad de hemodiálisis y 28 a diálisis peritoneal y 20 eran familiares de los pacientes. Los resultados obtenidos se reflejan en la tabla N° 1.

Tabla N° 1. Distribución general de los participantes del estudio y positividad de *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina

Tipo de Participantes	N	<i>S. aureus</i> fenotipo resistente a Meticilina.
Personal de salud	17	5
Pacientes de hemodiálisis	12	2
Pacientes de Diálisis Peritoneal	28	5
Familiares	20	3
Total	77	15

Para conocer el mecanismo de resistencia a Meticilina en las cepas de *S. aureus* aisladas, se estudió la presencia del gen *mecA*, utilizando la técnica molecular PCR, de las 15 cepas de *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina 5 de ellas resultaron portadoras del gen *mecA*. La distribución de cepas positivas para el gen *mecA* se muestran en la tabla N°2.

Tabla N°2. Distribución fenotípica y genotípica de las cepas SARM

Origen del aislado	<i>S. aureus</i> fenotipo resistente a Meticilina.	SARM gen <i>mecA</i> positivo por PCR
Personal de la salud	5	3
Pacientes de hemodiálisis	2	0
Pacientes de Diálisis Peritoneal	5	1
Familiares	3	1
Total	15	5



Un segundo objetivo del estudio fue determinar si los participantes en quienes se aisló *S. aureus* fenotipo resistente a meticilina, presentaron algún proceso infeccioso en el que pudiese haber estado involucrada este tipo de cepa bacteriana. De acuerdo a las complicaciones desarrolladas por los portadores nasales de *S. aureus* fenotipo resistente a meticilina, 3(60%) de los pacientes pertenecientes a la unidad de diálisis peritoneal desarrollaron peritonitis, entre el personal de salud solamente 1(33%) con infección de herida quirúrgica y de los familiares ninguno. Los resultados se reflejan en la tabla N°3. En ninguno de los casos se hizo cultivo para confirmar la presencia de *S. aureus*, sin embargo los pacientes recibieron tratamiento antimicrobiano (vancomicina) tomando en cuenta la posibilidad de que *S. aureus* resistente a meticilina fuese el agente causal.

Tabla N°3. Distribución de portadores nasales *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina que presentaron complicaciones infecciosas.

Origen del aislado	<i>S. aureus</i> fenotipo resistente a Meticilina	Portadores con complicaciones
Personal de la salud	5	1
Pacientes de hemodiálisis	2	0
Pacientes de Diálisis Peritoneal	5	3
Familiares	3	0
Total	15	4



DISCUSIÓN

La colonización nasal de *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (SARM) es un problema de salud pública en los hospitales y a nivel comunitario. La mayor importancia de SARM radica en que es la causa principal de infecciones intrahospitalarias con un importante índice de mortalidad, debido a su condición de bacteria multi-resistente, especialmente cuando su resistencia a Meticilina se debe a la presencia del gen *mecA* (36,42).

La identificación del gen responsable de la resistencia a Meticilina aporta información valiosa para su control en los hospitales. En nuestro estudio, de las 15 cepas de *S. aureus* con fenotipo resistencia a Meticilina, 5 son portadoras del gen *mecA*. Las cepas que presentan este gen se caracterizan por su multi-resistencia, limitando las opciones terapéuticas, lo cual compromete a las autoridades del hospital a reforzar las medidas implementadas para prevenir la diseminación de esta bacteria (44).

El mayor número de cepas SARM pertenecen al personal de salud 3 de las 5 cepas con fenotipo resistencia a Meticilina. El rol que juegan los trabajadores de la salud en la transmisión de SARM ha sido ampliamente descrito por diferentes investigadores. Albrich y Harbarth hicieron una búsqueda de literaturas desde 1980 al 2006 para determinar la probabilidad de colonización e infección por SARM en trabajadores y valorar su rol en la transmisión. Ellos encontraron en 127 investigaciones un promedio de 4.6% de trabajadores portadores de SARM y el 5.1% tenían infecciones clínicas. Po-Liang Lu y col. demostraron esta probabilidad haciendo una comparación molecular de las cepas y observando que las aisladas de los trabajadores tenían las mismas características de las cepas aisladas de los pacientes de diálisis. Como podemos notar cada año se incrementan los estudios que reportan como los trabajadores se convierten en fuentes, vectores o víctimas de SARM. (5,43). En los años 2002, 2007 y 2010 Lara, Gutiérrez Cáceres y Arbizú, realizaron estudio de portadores nasales de SARM en personal de salud del HEODRA y confirmaron la Circulación de SARM en este hospital (9,10,12).

Una de las cepas SARM *mecA* positivo, encontradas en este estudio, corresponde a un paciente de diálisis peritoneal que tuvo estancia intrahospitalaria y el familiar de este mismo paciente también resulto portador nasal de SARM *mecA* positivo. Este hallazgo es importante ya que cabe la posibilidad de que la cepa sea la misma y con esto aumenta el riesgo en la comunidad de dispersión de SARM. Es también importante señalar que cuando la resistencia es debida al gen *mecA* no hay alternativa de tratamiento más que el uso de Vancomicina, en cambio cuando son por Hiperproducción de betalactamasas como es el caso de la mayoría de los portadores nasales encontrados en este estudio, los pacientes



pueden ser tratados administrándoles inhibidores de betalactamasa unidos a otro betalactámico⁽³⁶⁾.

Los pacientes que reciben diálisis tienen un alto riesgo de desarrollar serias complicaciones tales como la peritonitis, septicemia, neumonía y bacteremia y otras menos graves como infección vinculada al catéter, celulitis, absceso vascular, etc ^(37,39).

En este estudio el único tipo de complicación observada en los pacientes portadores nasales de *S. aureus* fenotipo resistente a Meticilina fue peritonitis (3/5,60%). Szeto y col. 2005, estudiaron 162 casos de peritonitis en pacientes que recibieron diálisis peritoneal y reportaron a SARM como agente causal del 18.4% de los casos. En este estudio no fue posible conocer el agente involucrado dado que no se realizó cultivo, sin embargo los casos fueron manejados con los antimicrobianos indicados en casos SARM como es el tratamiento con Vancomicina, basados en que diferentes estudios han demostrado que ser portador de SARM incrementa el riesgo de desarrollar una infección por este microorganismo y que posiblemente la misma cepa que portan en la nariz o la piel es la misma causante de estas ^(38,39,41,45). El manejo de los procesos infecciosos de los pacientes de diálisis como casos SARM es probablemente producto del conocimiento que en el HEODRA existe una importante circulación de personal de salud portadores nasales de SARM que fueron reportados en diferentes periodos y diferentes estudios desde el año 2002. ^(9,10,12).



CONCLUSIONES

En las unidades de Hemodialisis y Dialisis Peritoneal del HEODRA existe un porcentaje del 6.4% de portadores nasales de *Staphylococcus aureus*, gen mecA positivo (SARM). El mayor número de portadores nasales de SARM son los trabajadores de la salud. Los hallazgos de este estudio son de vital importancia dado que el factor de riesgo en la dispersión de SARM es la circulación del gen mecA en hospitales y la comunidad, esta condición aumenta el riesgo de infecciones por esta bacteria que hoy en día es considerada como superpatógena en la mayoría de los hospitales del mundo.

Los resultados del estudio indican la necesidad de hacer énfasis en las medidas higiénico-sanitarias en el HEODRA para prevenir las complicaciones con infecciones por SARM en pacientes, trabajadores de la Salud y familiares de los pacientes.



RECOMENDACION

- ✚ Mantener la vigilancia de posibles brotes de infecciones nosocomiales por SARM, así como las posibles complicaciones de los pacientes y personal de salud colonizados con esta bacteria.

- ✚ Promover actividades de educación continua a los trabajadores de la salud y la población en general sobre la importancia que tiene el control de SARM en los hospitales y la comunidad.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Navascués A, García-Irure J.J, Guillén F. Situación de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en el Hospital de Navarra. 2000-2002.
2. Boixader Dumanjón N. et. al. El SARM en una unidad de hemodiálisis. Implementación de medidas de prevención y control. versión impresa ISSN 1139-1375 Rev Soc Esp Enferm Nefrol v.8 n.3 Madrid jul.-sep. 2005
3. Paissa Albert. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. Cap. 4 Epidemiología y factores de riesgo de la infección por *S. aureus*. Barcelona, España. ed.1ª. 2009.pag.74
4. Hawkey Peter M. and Jones Annie M. The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64, Suppl.1, i3–i10 doi:10.1093/jac/dkp256. 2009
5. Po-Liang Lu, Jer-Chia Tsai. et. al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmisión in diálisis patients, healthcare worker and their family members. Taiwán, 2007. *nephrology diálisis transplantation*; 23:1659-1665.
6. Reynaldo M.B., Flores M.B, Viegas Caetano J.A., Magariños MdC. Eficacia de algunos biocidas contra estafilococos hospitalarios sensibles y resistentes a la metilicina en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. Panam. Salud Publica*. 2004: 16(3):187-92.
7. De Lencastre, H., Tomasz, A. et. al. Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*: a paradigm of adaptive power. Edited by Steve Brickner and Shahriar Mobashery. Elsevier Ltd. Portugal 2007, 10:428-435.
8. Cabrera, A. M. Estafilococo aureus meticillin resistente. Un reto en la terapia antimicrobiana. La Habana, Cuba. 2007.
9. Lara T. Ma. Eugenia. Patrón de resistencia antimicrobiana de por *Staphylococcus aureus* en el HEODRA, León. UNAN-LEON. 2003.
10. Gutiérrez Cáceres, M. Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina en pacientes y personal de salud del HEODRA, León. Tesis Carrera Medicina. UNAN-LEON 2008.



11. Hernández F., López K. Colonización por cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en personal de salud, pacientes y familiares de las unidades de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal del Hospital HEODRA-León. Investigación de curso. UNAN-LEON 2009.
12. Arbizú O. Detección molecular del gen *mecA* y caracterización de fenotipos de resistencia de SARM de pacientes y personal de salud del HEODRA 2008-2009. León. Tesis Maestría Microbiología. UNAN-León
13. Calderón L. y Esquivel A. Frecuencia de portadores nasales de SARM entre el personal del Hospital Vélez Paíz, Managua. Tesis Carrera Bioanálisis Clínico. UNAN-León. 2010
14. Castillo Dolmus F. Frecuencia de *S. aureus* resistente a meticilina su perfil y mecanismo de resistencia en portadores nasales de pacientes y personal de salud de la unidad de terapia intensiva del Hospital España de la ciudad de Chinandega. 2010. Tesis Carrera Bioanálisis Clínico. UNAN-León
15. Jawetz E., Melnick y Adelberg. Microbiología Médica: Estafilococos. 17º ed. México, D.F. 2002, 14: 219-224
16. García S., Acevedo Alcaraz C., Bennani A. Técnicas para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el laboratorio de microbiología clínica. Hospital Universitario Virgen. Arrixaca, Murcia. 2005.
17. Camarera J., Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia. Tesis. 2002
18. Mims C., Payfair J., Roitt I., Wakelin D. y Williams R. Microbiología médica. 2ª. Edición. Editorial Harcourt. Barcelona, España. 1998.
19. Herrera K., Espinoza M., Mejía Y., Zambrana L. E., Silva E., Rojas Y., Gadea W., Chavarría S., Hernández M., Ramírez M. M., Membreño J. M., Lara M. E., Saenz J. E., Valle S., Torrez A., Carera E., Cáceres M. Resistencia antimicrobiana en Hospitales nor-occidentales de Nicaragua. Universitas, Volumen 1, UNAN-León, Editorial Universitaria. 2007.
20. González Alemán M., Juárez Gámez I., González Mesa L., Nadal Becerra L. Frecuencia de colonización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un grupo de niños en edad escolar. Escuela Primaria República Popular de Angola, Ciudad de La Habana, Cuba, 2006.



21. Sopena G. Nieves. Evolución de un brote epidémico por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM). Med. Cli. Barcelona, España. 2002: 10-16
22. Nicaragua, Ministerio de Salud. Manual de procedimientos de bacteriología médica. ed. 2004. Managua, Nicaragua; 2004.
23. Malbrán C. G. y Organización Panamericana de la Salud. Programa de control de calidad en bacteriología y resistencia a antimicrobianos. Buenos Aires, Argentina. Boletín N° 1. 2001.
24. Sopena G. Nieves. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM). Med. Cli. Barcelona, España. 2002: vol.118 num 17.
25. Hartman A., Tomasz B. Altered penicillin-binding-proteins in methicillin-resistant strains of *S. aureus*. Antimicrobial Agents Chemother. 1981. 19: 726-735
26. Hayes M. et. al. Decreased affinity of a penicillin binding protein for β -lactam antibiotics in clinical isolate of *S. aureus* resistant to methicillin. FEMSM Microbiol let. 1981. 10: 119-122.
27. Berger – Bachi B. 1994 Expression of resistance to methicillin. Trends in microbiology. 2:389-393.
28. Chambers H. F. et al. 1994 Kinetics of penicillin binding protein of *S. aureus* Brochem J. 301:139-144.
29. De Lancastre H. et al Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *S. aureus*. ANTIMICROB agents Chemother 35: 632-639. 1991
30. Gil de M. M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Hospital Clínico Regional de Valdivia, Providencia, Santiago, Chile. Rev. chil. infectol. v.17 n.2: 145-152. Santiago 2000.
31. Coyle Marie B. Organización Panamericana de la Salud. NCCLS: Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Cap.III Organismos gram positivos: estafilococos. Atlanta, Georgia, USA. 2002
32. Batista Díaz N. et. al. Evaluación del método de difusión en disco de 30 μ g de cefoxitina en la detección de resistencia a meticilina en aislamientos seleccionados de *Staphylococcus aureus*. Hospital Universitario



33. Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. Rev Esp Quimioter. 21(4): 213-216. 2008
34. Caliveri Stephen J. Manual de Pruebas de Susceptibilidad antimicrobiana. American Society for Microbiology. QR177.M37 2005
35. Ortega Maidana E. Control de Infecciones y Seguridad de los Pacientes en Hemodiálisis. ECI. Volumen 2. no. 4. 2010: 270-280
36. Romero Cabello R. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2^{da} edición. Microbiología y Parasitología. Editorial medica Panamericana S. A de C. U. Pág. 257- 259.
37. Paissa Albert. Infecciones producidas por Staphylococcus aureus. Cap. 2. Mecanismo de resistencia y epidemiología molecular de la infección por S. aureus. Madrid, España. ed.1^a. 2009. pag.33-37
38. Rodriguez J. et al. Documento de consenso sobre el manejo clínico de las infecciones causadas por S. aureus resistente a meticilina en adultos. Soc. Andaluza de enfermedades infecciosas. Sevilla, España.
39. Davis K.A. et al. Methicillin-resistant MRSA nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. Clin Infect Dis. 2005; 40(5): 767.
40. Ghasemian R. et al. Frequency of nasal carriage of S. aureus and its antimicrobial resistance pattern in patients on hemodialysis. Sari, Iran. Volume 4:218-222. 2010.
41. Szeto C.C et. al. Staphylococcus aureus peritonitis complicates peritoneal dialysis. Hong Kong, China. 2005
42. Zimakoff J. et al. S. aureus carriage and infection among patients in four haemo- and peritoneal-dialysis. Center in Denmark. Vol 33, issue 4, 1996. Pag: 289-300
43. Celik G. , Gülcan A. et al. Prevalence of nasal S. aureus carriage in the patients undergoing hemodialysis and evaluation of risk factor and laboratory parameters. Turkey. Renal failure, 33(5):494-498.2011.
44. Albrich W. , Harbarth S. Health-care workers: source, vector or victim of SARM. Lancet Infect Dis 2008; 8:289-301.



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León
Carrera de Bioanálisis Clínico



ANEXOS



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Prevalencia del gen *mecA* en *Staphylococcus aureus* fenotipo resistentes a meticilina aislados en personal de salud, pacientes y familiares de las unidades de Hemodiálisis y Diálisis peritoneal del HEODRA.

Ficha No.: _____ Expediente: _____ (en caso de paciente)

Nombre y Apellido: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Fecha de toma de hisopado: _____

Fecha de detección de SARM fenotipo resistente: _____

Tiempo de estar bajo tratamiento: _____

DATOS DE LABORATORIO

Descripción	PCR	
	Positivo	Negativo
SARM portador del Gen <i>mecA</i>		

DATOS CLINICOS

Fecha en que presento la complicación	Complicación presentada	Agente causal	Tratamiento empírico para <i>S. aureus</i>



Colonización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

Hemodiálisis y Diálisis peritoneal-HEODRA-2009

Consentimiento informado

S. aureus resistente a Meticilina (SARM) es un problema de salud importante en todo el mundo. Es una bacteria gram positiva que coloniza la piel y fosas nasales, es uno de los agentes más frecuentes de infecciones en la piel y tejidos blandos, puede causar complicaciones como bacteremias, sepsis u otras que podrían agravar el estado de salud del paciente. *S. aureus* resistente a Meticilina significa que no es posible utilizar antibióticos betalactámicos para el tratamiento de infecciones provocadas por esta bacteria.

Objetivo: Aislar, identificar y determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de SARM en hisopados nasales de pacientes del servicio de Hemodiálisis, Diálisis peritoneal, familiares y personal médico.

Requisitos para participar en el estudio:

- Pacientes: que requieran del servicio de Hemodiálisis, Diálisis peritoneal y familiar que acompaña.
- Personal de salud: asignados al área de estudio.

Método: Hisopado nasal. Cada paciente, familiar y personal de salud serán muestreados cada semana, durante la sesión de hemodiálisis y consulta de Diálisis peritoneal; las muestras serán recolectadas durante todo el periodo de estudio.

Riesgos de participar en la investigación: ninguno.

Beneficios de participar en la investigación: determinar la presencia de portadores nasales *S. aureus* resistente a Meticilina (SARM) para evitar complicaciones de salud y evitar la diseminación de este microorganismo.

Derechos del paciente:

- El paciente tiene derecho de ser informado claramente de su participación en el estudio, antes de obtener el consentimiento por escrito.
- El paciente tiene derecho a que se resguarde su privacidad, la información que el investigador obtenga por entrevista o análisis de laboratorio se mantendrá en confidencialidad.

Por cuanto:

Yo: _____

Habiendo sido informado (a) de manera verbal y escrita sobre el propósito, riesgos y beneficios de este estudio, de manera voluntaria doy autorización para la toma de muestra.

Firmo, a los _____ días del mes de _____ del 2009. Participante: _____